

Jhon Edison Jimenez Rojas

Aspectos reprodutivos de machos de suruvi
Steindachneridion scriptum (Miranda Ribeiro, 1918)
na primeira maturação sexual e indução hormonal da espermiacão

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

Orientador: Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

Florianópolis – SC
2017

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC**

Jimenez-Rojas, Jhon Edison

Aspectos reprodutivos de machos de suruvi
Steindachneridion scriptum (Miranda Ribeiro, 1918)
na primeira maturação sexual e indução hormonal da
espermiação / Jhon Edison Jimenez-Rojas;
orientador, Alex Pires de Oliveira Nuñez, 2017.
133 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Maturação gonadal. 3.
Qualidade espermática. 4. GnRH-a. 5. CASA. I.
Nuñez, Alex Pires de Oliveira. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação
em Aquicultura. III. Título.

Aspectos reprodutivos de machos de suruvi (*Steindachneridion scriptum* Miranda Ribeiro, 1918) na primeira maturação sexual e indução hormonal da espermiacão

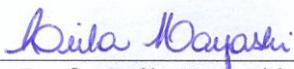
Por

JHON EDISON JIMENEZ ROJAS

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

DOCTOR EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

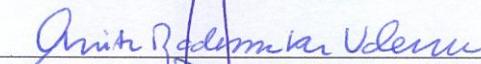


Profª. Leila Hayashi, Dra.
Coordenadora do PPG em Aquicultura

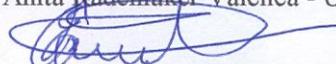
Banca Examinadora:



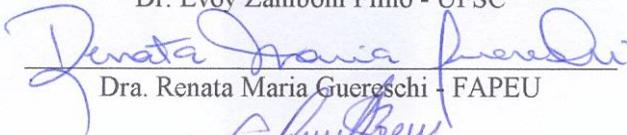
Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez – *Orientador*



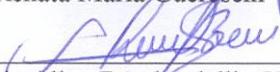
Dra. Anita Rademaker Valença - UFSC



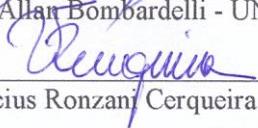
Dr. Evoy Zaniboni Filho - UFSC



Dra. Renata Maria Guerreschi - FAPEU



Dr. Robie Allan Bombardelli - UNIOESTE



Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira - UFSC

*Dedico este trabajo a mis amados
padres Ana y Edison, pilares
fundamentales en mi formación
académica y personal.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela qualidade da família na qual me permitiu nascer, por conceder-lhes vida e saúde a todos eles para que hoje possam desfrutar desta importante conquista.

A minha Família por todo o amor e incondicional apoio brindado ao longo da minha vida. Especialmente agradeço a meus pais Ana e Edison pela educação ministrada dentro de casa e pelos valores transmitidos. Agradeço a meus irmãos Juan Camilo, Isabel Cristina, Lina Maria e Andres Felipe, pelos anos que compartilhamos dentro de um mesmo teto, obrigado por cada um desses momentos de amor, parceria, brigas e reconciliações, sem lugar a dúvidas cada um desses momentos formaram o ser humano que sou. Obviamente, os novos membros da família não poderiam ficar por fora destas linhas de agradecimento, embora todos os meus sobrinhos tenham nascido na minha ausência, o amor que sinto por cada um deles é infinito e espero que este trabalho seja um incentivo para suas futuras vidas acadêmicas.

As minhas irmãs de coração *las Brujitas* Atara-Araujo (Stephania, Laura e Valentina) e sua extraordinária mãe (Alexandra), obrigado pelo carinho e apoio brindado mesmo na distância vocês são parte da força que motivou o meu caminho além das fronteiras.

Ao meu orientador, Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez pela oportunidade que me outorgou ao me aceitar como seu orientado, pela confiança depositada no meu trabalho, pela amizade construída ao longo destes anos, por cada um de seus sábios conselhos e apoio incondicional às minhas ideias, por ser esse docente de coração gigante e espírito magnânimo, obrigado por cada uma das horas compartilhadas tanto em sala de aula como fora dela.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Programa Estudante-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG), Processo nº 15052125, pela bolsa de estudos concedida.

Ao professor Dr. José Luiz Pedreira Mourinho, por abrir as portas do LAMEX para o desenvolvimento do meu trabalho. Obrigado Claudia Machado, Ana Lucia, Lucas Cardoso, Patrícia Garcia pelo conhecimento transmitido e todo o suporte brindado durante meu aprendizado e envolvimento com o mundo da histologia.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), pelo espaço concedido nas suas instalações para o desenvolvimento desta pesquisa, obrigado Raphael Serafini, Alvaro Graeff, Haluko Massago, Dorva e Ronaldo, pelo suporte e disposição durante minha passagem por Caçador-SC.

Ao melhor grupo de trabalho da Universidade Federal de Santa Catarina, o LAPAD, e seu excelente coordenador o Dr. Evoy Zaniboni Filho, obrigado pelo apoio desde minha chegada ao Brasil.

A minha querida bolsista Ana Caroline Gonçalves, obrigado pela dedicação ao experimento, pela parceria, os bolinhos de chocolate e as conversas durante as longas horas de trabalho no LAMEX e no LAPAD, obrigado pela amizade construída dentro e fora dos espaços acadêmicos.

As queridas estagiárias Samira, Maria Ruiz, Aline, Cláudia (Crau), Angela e Fernanda. Obrigado pelo carinho, esforço e carisma, vocês tornaram os dias de trabalho mais agradáveis e divertidos.

A meu irmão acadêmico e espiritual Jurandir Bernardes Júnior. Caro amigo, para mim foi um orgulho ter dividido com você a caminhada que nos levou rumo ao título de Doutor, obrigado pelos conselhos e a parceria durante os experimentos, ambos sabemos que não foi nada fácil, mas valeu a pena.

Aos meus caros amigos o mestre Lula (Luiz Freitas), Maria do Carmo, Eliziane Silva, Roberta e Anderson Dal Pont, Josiane Ribolli, Dennis Moreno, Gicella Barros, Renata Guerreschi, Fabiola Reis, Débora Campos, Natália Garcia, Santiago García, Moisés Poli, Samara Hermes, Giuliano Huergo, Jaqueline de Bem, Valquiria Garcia, Jade de Oliveira e aos grandes Maurício Machado e Ronaldo da Silva. Os dias que compartilhei ao lado de vocês foram os mais especiais e abençoados durante minha passagem pelo Brasil.

Aos amigos da Pós-Graduação Fábio, Gabriel, Emílio, Mariana, Priscila e Euler.

Enfim, a todas e cada uma das pessoas que de alguma forma fizeram parte da minha vida e estiveram presentes durante os anos em que desfrutei morando e aprendendo deste maravilhoso país chamado BRASIL.

Os únicos homens verdadeiramente felizes são os que buscam uma maneira de serem úteis aos outros.
(Albert Schweitzer)

RESUMO

Este trabalho aborda aspectos relacionados com a descrição da primeira maturação sexual em machos de *Steindachneridion scriptum*, e de sua resposta ao uso de análogos de GnRH como indutores da espermiacção em reprodutores mantidos em condições de cativeiro. Para tanto, juvenis com quatro meses de idade foram estocados em condições de laboratório (250 peixes em caixas de polietileno de 750 L, *indoor*) e condições externas (480 peixes em tanques-rede de 8,0 m³, *outdoor*). O desempenho zootécnico e as fases da espermatogênese foram acompanhados através de biometrias e coletas mensais das gônadas durante vinte meses de criação. O crescimento observado nos animais submetidos às condições de criação *indoor* e *outdoor* foi descrito pelo modelo de Ohnishi ($P < 0,001$). A primeira maturação sexual dos machos mantidos no ambiente *indoor* foi atingida aos 13 meses de idade ($28,50 \pm 2,15$ cm), enquanto no ambiente *outdoor* os machos atingiram esta condição aos 22 meses de idade ($20,96 \pm 1,86$ cm). Durante o terceiro ciclo reprodutivo dos machos (37 meses de idade) mantidos na condição *indoor*, 48 peixes foram distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso no qual os tratamentos foram doses de 4,4 mg/kg de peso vivo (PV) de extrato pituitário de carpa (EPC), 1,0 ml/kg de PV de Ovaprim®, 1,8 ml/kg de PV de acetato de busserelina, e de 1,4 ml/kg de PV de solução salina (0,9% de NaCl) como grupo controle. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para a osmolaridade, viabilidade e morfologia espermática entre os animais induzidos e não induzidos. A motilidade e a velocidade espermática foram significativamente maiores ($P < 0,05$) nos peixes induzidos do que as observadas em peixes não induzidos durante os primeiros 20 s após ativação do sêmen. Os machos de *S. scriptum* podem atingir a maturação gonadal quando mantidos em condições de cativeiro, e o uso dos análogos de GnRH acetato de busserelina e Ovaprim® induziram a produção de sêmen com qualidade similar à obtida com o uso de EPC, sendo recomendado o uso do acetato de busserelina nas atividades de propagação artificial com o intuito de reduzir os custos relacionados ao uso de EPC.

Palavras-chave: Aquicultura, maturação gonadal, qualidade espermática, GnRH-a, CASA.

ABSTRACT

This work deals with aspects related to description of the first gonadal maturation of suruvi *Steindachneridion scriptum*, and its response to the use of GnRH analogs as inducers of spermiation in broodstock under captive conditions. Juveniles with four-month-old were stored under laboratory condition (250 fish in polyethylene boxes of 750 l, indoor) and external condition (480 fish in 8,0 m³ net tanks, outdoor). The zootechnical performance and the phases of spermatogenesis were monitored through biometrics and monthly collections of gonads for twenty months of breeding. The growth observed in animals submitted to indoor and outdoor conditions was described using the Ohnishi model ($P < 0.001$). The first gonadal maturation of the males kept in the indoor environment was reached at 13 months of age (28.50 ± 2.15 cm), in the outdoor environment males arrived this condition at 22 months of age (20.96 ± 1.86 cm). During the third reproductive cycle of males (37 months of age) kept in indoor condition, 48 animals were randomly assigned to in four treatments using carp pituitary extracts (CPE) doses of 4.4 mg/kg of body weight (BW), Ovaprim® doses of 1.0 ml/kg of BW, buserelin acetate doses of 1.8 ml/kg of BW and saline solution (0.9% NaCl) dose 1.4 ml/kg of BW, used as a control. No significant differences ($P > 0.05$) were observed for osmolarity, viability and sperm morphology between the induced and non-induced animals. Motility and sperm velocity were significantly higher ($P < 0.05$) in induced fish than those observed in fish not induced during the first 20 s after sperm activation. Males of *S. scriptum* can reach gonadal maturation when held in captive conditions and the use of GnRH analogues like buserelin acetate and Ovaprim ® induced the production of semen with similar quality to that obtained with the use of CPE. We recommended the use of buserelin acetate, within the activities of artificial propagation with the purpose of reducing the costs related to the use of CPE

Keywords: Aquaculture, sexual maturation, sperm quality, GnRH-a, CASA.

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL	17
1.1. <i>Steindachneridion scriptum</i> (Miranda Ribeiro, 1918)	22
1.2. Controle neuroendócrino da reprodução em peixes teleósteos	26
1.2.1. Hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH)	27
1.2.2. Hormônio folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) 30	
1.2.3. Espermatogênese e morfologia testicular	33
1.3. Indução hormonal	38
1.4. Qualidade espermática	40
2. JUSTIFICATIVA	43
3. OBJETIVOS	45
3.1. Objetivo geral	45
3.2. Objetivos específicos	45
4. FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS	47
Capítulo 1: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE CRIAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E A PRIMEIRA MATURAÇÃO SEXUAL EM MACHOS DE <i>Steindachneridion scriptum</i>	49
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1. INTRODUÇÃO	51
2. MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1. Origem dos peixes e delineamento experimental	53
2.2. Aspectos gerais do manejo	54
2.3. Biometrias e variáveis de desempenho	54
2.4. Coleta de gônadas	55

2.5. Análise histológica	56
2.6. Modelo de crescimento	56
2.7. Composição centesimal	57
3. RESULTADOS	57
4. DISCUSSÃO	69
5. CONCLUSÃO	75
6. AGRADECIMENTOS	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
Capítulo 2: USO DE ANÁLOGOS DE GnRH COMO PROMOTORES DA ESPERMIÇÃO EM <i>Steindachneridion scriptum</i>	81
RESUMO.....	81
ABSTRACT	82
1. INTRODUÇÃO	83
2. MATERIAL E MÉTODOS	86
2.1. Indução hormonal e qualidade espermática	86
2.2. Análise estatística	89
3. RESULTADOS	90
4. DISCUSSÃO	95
5. CONCLUSÃO	99
6. AGRADECIMENTOS	99
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
5. CONCLUSÕES GERAIS	109
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL	113
8. APÊNDICES	129

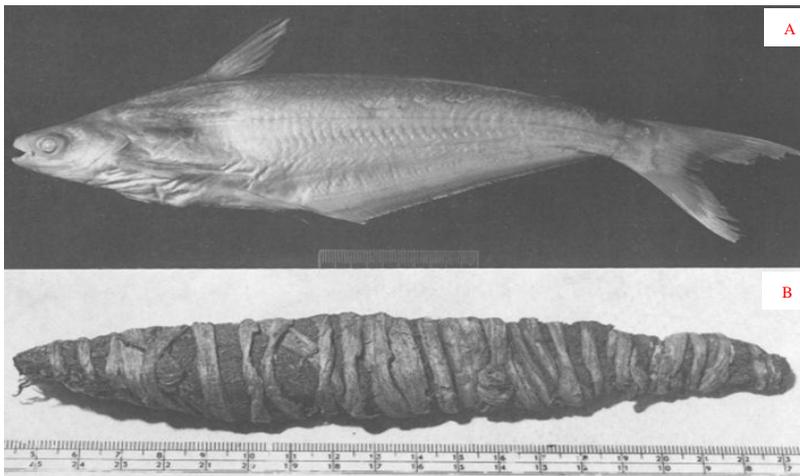
1. INTRODUÇÃO GERAL

Os bagres, também conhecidos popularmente ao redor do mundo pelo termo genérico *catfish*, recebem esta denominação devido à presença de barbilhões, que são apêndices carnosos e filamentosos com funções de orientação e gustação, cuja localização ao redor da boca lembra os característicos bigodes dos felinos.

Este grupo de peixes tem sido fonte de inspiração e de alimento para muitas culturas ao longo dos séculos. Na mitologia japonesa, por exemplo, a origem dos frequentes terremotos que flagelam o país foi atribuída ao batimento da cauda do Namazu, um monstro (*yo-kai*) mítico que era representado por um bagre gigante (REITHERMAN, 2014). No antigo império egípcio há diversas alusões à importância dos bagres nas atividades religiosas, como exemplares mumificados (Figura 1) ou representados nas pinturas que decoravam algumas tumbas que datam da época do faraó Ramsés II (LEEK, 1976). Por outro lado, muitas são as histórias do folclore popular dos povos indígenas no continente americano nas quais os bagres participam como personagens associados a histórias de punição ou como itens alimentares de destaque para seus habitantes (CORTÉS, 2003; GRIGGS; PITCHFORD, 2009).

Ainda hoje os bagres continuam sendo fonte de inspiração para diversos fenômenos culturais ao redor do mundo, sendo retratados na literatura, na música, no cinema e em outras expressões artísticas. De igual forma, a sua importância para algumas comunidades tem sido mostrada quando se nomeia alguns municípios, como *El bagre* (Colômbia) e Jundiá (Brasil), ou com a construção de grandes monumentos que se tornaram pontos turísticos importantes em alguns locais, como Guayaquil (*Escultura al bagre* - Equador), Wahpeton (*World's Largest Catfish* - USA), Dunnville (*The mudcat statue* - Canada) e Yoshikawa (*Golden catfish* - Japão).

Figura 1. Vista lateral de um exemplar de *Schilbe mystus* (Linnaeus, 1758). A) Conservado. B) Mumificado.



(Adaptado de: Leek, 1976)

Segundo Nelson, Grande e Wilson (2016) os bagres podem ser assim classificados:

- Reino: Animalia;
- Filo: Chordata;
- Subfilo: Craniata;
- Infracilo: Vertebrata;
- Superclasse: Gnathostomata;
- Clado: Teleostomi;
- Classe: Osteichthyes;
- Subclasse: Actinopterygii;
- Infraclasse: Holostei;
- Divisão: Teleostomorpha;
- Subdivisão: Teleostei;
- Superordem: Ostariophysi;
- Série: Otophysi;
- Subsérie: Siluriphysi;
- Ordem: Siluriformes.

Atualmente esta ordem taxonômica congrega cerca de 40 famílias, 490 gêneros e 3.730 espécies (Tabela 1) que estão presentes em quase todos os continentes, com exceção da Antártida, ainda que fósseis encontrados recentemente neste continente permitam afirmar que esta ordem já habitou todas as grandes massas de terra do planeta (NELSON; GRANDE; WILSON, 2016).

Os Siluriformes são a segunda ordem com o maior número de espécies de água doce do planeta e seus exemplares podem atingir um comprimento corporal inferior a cinco centímetros (*Pareiorhina hyptiorhachis*) ou superior a três metros (*Silurus glanis*), sendo que aproximadamente 55% destas espécies, excluindo-se as estritamente marinhas, estão concentradas no continente americano. Entre as principais características morfológicas observadas na maioria dos peixes desta ordem, destaca-se a ausência de escamas como primeira barreira de proteção e isolamento do ambiente externo. sendo observada a pele nua ou coberta por placas ósseas, presença da nadadeira adiposa e raios (espinhos) nas nadadeiras peitoral e dorsal, assim como dentes no vômer. Sua baixa capacidade visual em ambientes escuros ou com elevada turbidez é compensada pela presença dos barbilhões (órgãos sensoriais) maxilares, mandibulares e nasais, cuja função encontra-se associada principalmente à procura de alimento e evasão de obstáculos (DIOGO; CHARDON; VANDEWALLE, 2003; ARRATIA, 2003; LÉVÊQUE et al., 2008; NELSON; GRANDE; WILSON, 2016; FISHBASE, 2017).

Segundo dados da FAO (2016), em 2025 os bagres, junto com as carpas e as tilápias, serão responsáveis por 60% da produção aquícola do planeta, sendo que atualmente estão entre as espécies julgadas primordiais para o incremento da demanda e consumo de pescado, considerando-se que o consumo *per capita* de peixes a nível mundial registrou um aumento médio de 19,7 kg em 2013, e que já representa aproximadamente 17% do consumo total de proteína de origem animal.

Entre os bagres mais cultivados atualmente as espécies da família Pangasiidae apresentam o maior destaque, notadamente *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878), cuja maior produção e exportação são realizadas pelo Vietnã, país que ocupa a quarta posição no *ranking* da produção aquícola do mundo. No mercado internacional esta espécie apareceu como uma alternativa mais econômica para os consumidores de filé de “peixes brancos”, o que incentivou a expansão dos locais de criação para outras regiões além do delta do Mekong, onde originalmente tem sido cultivada (PHUONG; OANH, 2010; ALI; HAQUE; BELTON, 2013; FAO, 2016).

Tabela 1. Ordem dos Siluriformes e suas respectivas famílias, número de gêneros e de espécies.

Ordem	Famílias	Gêneros	Espécies
Siluriformes (Nematognathi)	Ailiidae	6	23
	Akysidae	5	67
	Amblycipitidae	4	34
	Amphiliidae	13	93
	Anchariidae	2	6
	Ariidae (Tachysuridae)	30	150
	Aspredinidae	13	39
	Astroblepidae (Argidae)	1	56
	Auchenipteridae	21	115
	Auchenoglanididae	6	70
	Austroglanididae	1	3
	Bagridae	19	221
	Callichthyidae	9	202
	Cetopsidae	5	42
	Chacidae	1	4
	Clariidae	15	115
	Claroteidae	8	62
	Cranoglanididae	1	5
	Diplomystidae	2	6
	Doradidae	32	93
	Erethistidae	8	45
	Heptapteridae	25	209
	Heteropneustidae (Saccobranchidae)	1	5
	Horabagridae	4	12
	Ictaluridae (Ameiuridae)	7	51
	Lacantuniidae	1	1
	Loricariidae	106	915
	Malapteruridae	2	21
	Mochokidae	10	209
	Nematogenyidae	1	1
	Pangasiidae	4	30
	Pimelodidae	32	112
	Plotosidae	10	40
	Pseudopimelodidae	6	39
	Ritidae	2	13
	Schilbeidae (Schilbidae)	5	33
Scoloplacidae	1	6	
Siluridae	13	107	
Sisoridae (Bagariidae)	17	202	
Trichomycteridae (Pygidiidae)	41	273	
TOTAL		490	3.730

(Adaptado de: Nelson, Grande e Wilson, 2016)

No continente americano, os Estados Unidos da América é o país onde a criação e a comercialização de bagres apresenta maior relevância, sendo *Ictalurus punctatus*, o bagre-do-canal, a principal espécie cultivada, cuja venda alcançou os 386 milhões de dólares em 2016 (NASS, 2017).

Por outro lado, o Brasil, com uma produção aquícola de 562,5 mil toneladas em 2014, é o maior produtor de Siluriformes da América Latina, com uma produção que superava as três mil toneladas por ano no início de 2010. Esta produção ainda hoje se concentra em dois gêneros: *Pseudoplatystoma*, cultivado principalmente na Região Centro-Oeste e *Rhamdia*, cultivado principalmente na Região Sul do Brasil (BALDISSEROTTO; RADÜNZ NETO; BARCELLOS, 2010; CAMPOS, 2010; FAO, 2016; VALLADÃO; GALLANI; PILARSKI, 2016; SAINT-PAUL, 2017; SILVA et al., 2017). Não obstante, outros gêneros com destacado interesse comercial como *Brachyplatystoma*, *Leiarius*, *Pimelodus*, *Steindachneridion* e *Zungaro*, estão sendo estudadas com o objetivo de incentivar sua criação em cativeiro ou sua conservação (ZANIBONI-FILHO; REYNALTE-TATAJE; HERMES-SILVA, 2010; PRADO et al., 2014; LÓPEZ, 2014; DAMASCENO et al., 2017).

Apesar do portencial aquícola que existe na diversidade de espécies de Siluriformes no Brasil, cabe destacar a preocupante situação do uso descontrolado, principalmente por parte do setor produtivo, de animais híbridos, como por exemplo os cachapinta ou pintachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pseudoplatystoma corruscans*), que são comercializados como se fossem geneticamente puros e, que posteriormente serão utilizados como reprodutores em diversas estações de piscicultura. Este panorama claramente ameaça a biodiversidade dos estoques naturais e o crescimento da indústria piscícola no Brasil (HASHIMOTO et al., 2012, 2016).

Embora no Brasil a produção de híbridos envolva espécies da família Pimelodidae, para muitos gêneros, como *Steindachneridion*, ainda não existem relatos de hibridação em cativeiro ou no ambiente natural, condição que permite que as capacidades genéticas e fenotípicas das espécies destes gêneros possam ser utilizadas plenamente, de modo a contribuir com o crescimento da piscicultura nacional.

Atualmente o gênero *Steindachneridion* apresenta seis espécies identificadas: *Steindachneridion amblyurum*, *Steindachneridion parahybae*, *Steindachneridion doceanum*, *Steindachneridion scriptum*, *Steindachneridion punctatum* e *Steindachneridion melanodermatum*. Todas elas apresentam em comum o porte grande, a forma das placas

dentíferas do premaxilar e do vômer, o reduzido número de rastros branquiais (13-20), e a presença de seis a oito raios divididos na nadadeira dorsal. Com exceção da cor escura de *S. melanodermatum* todas as outras espécies apresentam uma coloração corporal similar, cujo fundo cinza claro ou acastanhado combina-se com um castanho escuro e listras vermiculadas escuras, podendo apresentar pontos como observado em *S. amblyurum*, *S. doceanum* e *S. parahybae*. (GARAVELLO, 2005).

Todas as espécies do gênero *Steindachneridion* são endêmicas de bacias hidrográficas presentes no território brasileiro (Figura 2) e, sua distribuição possivelmente se deve a eventos geológicos do período terciário combinados com alguns do quaternário, eventos que restringiram a presença de *S. scriptum* e *S. punctatum*, às bacias do alto rio Paraná e do rio Uruguai (GARAVELLO, 2005; ROSA; LIMA, 2008). Recentemente Paixão (2016), utilizando a técnica do *DNA barcode*, determinou que não há divergências intraespecíficas entre os animais destas duas bacias hidrográficas, embora o valor de divergência (1,3%) seja maior que o valor médio das divergências intraespecíficas registradas para peixes (0,36%). Segundo este autor o elevado valor de divergência poderia ser explicado pelo isolamento geográfico entre as bacias hidrográficas.

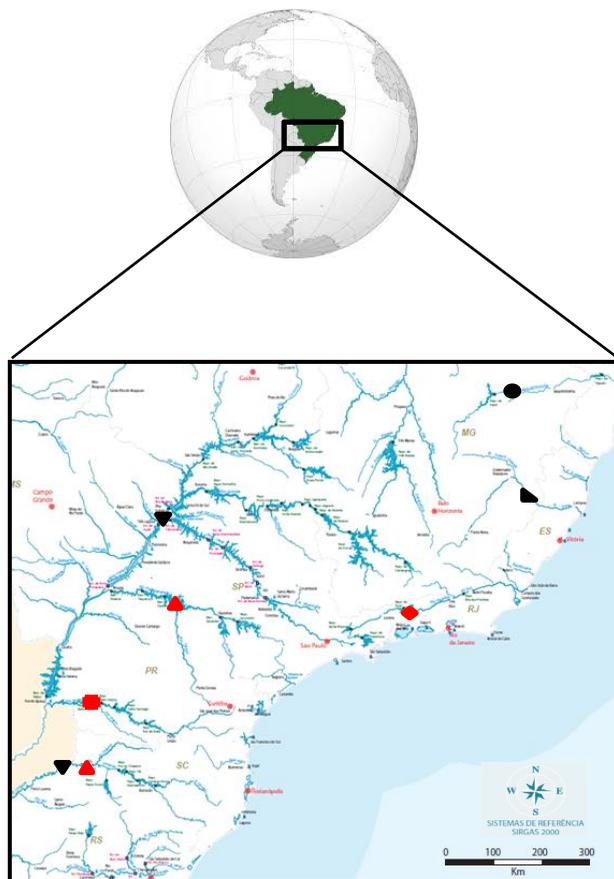
Steindachneridion scriptum (Figura 3) é a espécie alvo deste trabalho, e por esta razão serão apresentadas algumas de suas características, bem como os avanços sobre sua criação em cativeiro.

1.1. *Steindachneridion scriptum* (Miranda Ribeiro, 1918)

Steindachneridion scriptum conhecido popularmente com os nomes de suruvi/bocudo (Brasil), *bagre-cabezón/mocholo* (Argentina) e *Cabezón* (Uruguai) (FISHBASE, 2017) é uma espécie que habita locais profundos que sucedem corredeiras, em rios de médio a grande porte (AGOSTINHO et al., 2008), e com hábito alimentar predominantemente piscívoro (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003).

Esta espécie apresenta reduzido número de rastros branquiais (15-17) no seu primeiro arco branquial, boca grande e terminal, cuja mandíbula é ligeiramente mais curta do que o maxilar. A largura média da sua boca representa 43,26% do comprimento da cabeça, que por sua vez representa em média 29,44% do comprimento padrão, sendo que já foram capturados, no rio Uruguai, exemplares com até 90 cm de comprimento total e 7,0 kg de peso (ZANIBONI-FILHO et al., 2004; GARAVELLO, 2005).

Figura 2. Distribuição geográfica das espécies do gênero *Steindachneridion* atualmente identificadas.



Gênero <i>Steindachneridion</i>	Bacia Hidrográfica
● <i>S. amblyurum</i>	Rio Jequitinhonha
◆ <i>S. parahybae</i>	Rio Parafba do Sul
▲ <i>S. doceanum</i>	Rio Doce
▲ <i>S. scriptum</i>	Rio Uruguai e Alto Rio Paraná
▼ <i>S. punctatum</i>	Rio Uruguai e Alto Rio Paraná
■ <i>S. melanodermatum</i>	Rio Iguaçu

(Adaptado de: Garavello, 2005; Rosa e Lima, 2008; MTPA/Mapa Hidroviário, 2017)

Figura 3. Exemplar de *Steindachneridion scriptum*.



(Fonte: Arquivo pessoal)

Estudos sobre biologia reprodutiva apontam que esta espécie realiza pequenos deslocamentos migratórios durante o período reprodutivo, que ocorre entre os meses de setembro e novembro. Em cativeiro, no entanto, este período pode se estender até o mês de dezembro, uma vez que a temperatura da água pode influenciar fortemente o período reprodutivo. Por este motivo, animais estocados em viveiros de terra na região da Serra Catarinense apresentam período de desova tardio quando comparado com o período registrado para animais estocados no litoral catarinense (ZANIBONI-FILHO; REYNALTE-TATAJE; HERMES-SILVA, 2010; ABREU, 2015).

Durante o período reprodutivo a seleção de machos sexualmente maduros é simples, visto que uma leve pressão abdominal é suficiente para identificar animais que estão liberando sêmen. Esta caracterização é muito importante, tendo em vista que *S. scriptum* não apresenta dimorfismo sexual. Por outro lado, o processo de seleção de fêmeas maduras é mais trabalhoso e, atualmente, a opção mais simples limita-se ao uso de biopsia ovariana para seleção de fêmeas, cujos ovócitos apresentem distribuição unimodal e diâmetro modal mínimo de 1,62 mm (ABREU, 2015).

A larvicultura de *S. scriptum* é uma das fases mais sensíveis dentro da criação desta espécie, dado o comportamento canibal que os

animais apresentam logo após a reabsorção do saco vitelínico, aspecto responsável pela redução dos índices de sobrevivência durante as primeiras fases de crescimento desta espécie. No entanto, alguns autores indicam que melhores índices de sobrevivência e crescimento podem ser atingidos quando utilizado alimento vivo (ex: *Artemia* sp.) e fotoperíodo com prolongadas horas de iluminação (ADAMANTE; WEINGARTNER; NUNER, 2007; SCHÜTZ et al., 2008; ZANIBONI-FILHO et al., 2008a)

Segundo Nascimento (2013), esta espécie apresenta ótimo desempenho em piscicultura, sendo que juvenis com 70 g podem ser estocados em tanques-rede em ambiente externo em densidade de 60 peixes/m³ sem que haja comprometimento do crescimento corporal, mesmo durante os meses de inverno. Com aproximadamente 35 meses de criação esta espécie pode atingir um peso final médio de 1400 ± 330 g com sobrevivência média de 99%. De igual forma, em laboratório, juvenis com peso médio de 22,3 g podem ser estocados em densidade de 400 peixes/m³ em tanque-rede sem apresentar redução significativa em seus índices de crescimento, com sobrevivência média de 98% após 120 dias de criação (NASCIMENTO, 2016).

Embora *S. scriptum* seja uma espécie que se ajusta rapidamente às condições de cativeiro e apresente ampla tolerância ao manejo em determinados procedimentos de rotina, torna-se necessário o uso de anestesia com o intuito de reduzir ao máximo o estresse produzido. Pallamin (2014) mostrou que a concentração ideal de eugenol para esta espécie é de 31,5 mg/L, considerando-se o melhor resultado obtido para os tempos de indução à anestesia e de recuperação.

Quanto ao aproveitamento comercial dos animais produzidos em cativeiro, seu rendimento corporal não é uma restrição, dado que os rendimentos de carcaça e de filé podem atingir 82,91% e 27,4%, respectivamente, sem apresentar diferenças significativas entre machos e fêmeas (MAGHELLY et al., 2014). A composição corporal dos animais pode ser aferida antes do abate comercial, sem a necessidade da coleta de amostras para procedimentos convencionais de composição corporal, uma vez que com o uso da impedância bioelétrica (BIA) foi possível definir as porcentagens de umidade e proteína corporal do *S. scriptum* no próprio local de criação (ZANIBONI-FILHO et al., 2015).

Em ambiente natural, estudos relacionados à biologia pesqueira, desenvolvidos pelo Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce da Universidade Federal de Santa Catarina (LAPAD/UFSC) na região do alto rio Uruguai, mostraram que esta espécie ocupa as primeiras quatro posições entre os Siluriformes mais capturados nas

áreas de influência dos reservatórios das usinas hidroelétricas de Itá e Machadinho, sendo que entre os anos 2000-2009 manteve-se entre as oito morfoespécies com maior biomassa capturada (BEUX; ZANIBONI-FILHO, 2008; ZANIBONI-FILHO et al., 2008b; SCHORK et al., 2012; SCHORK, HERMES-SILVA; ZANIBONI-FILHO, 2013).

No entanto diferentes estudos na região do alto rio Uruguai têm mostrado redução na captura da espécie, redução do tamanho efetivo populacional de fêmeas e uma baixa diversidade nucleotídica (SCHORK, HERMES-SILVA; ZANIBONI-FILHO, 2013; PAIXÃO, 2016), sendo esta uma situação preocupante já que, *S. scriptum* é considerada oficialmente uma espécie ameaçada de extinção (Instrução Normativa n° 05 de 21 de maio de 2004 do Ministério do Meio Ambiente - MMA), e atualmente a Portaria MMA/445, de 17 de dezembro de 2014, regula sua captura, transporte e armazenamento ao proibir ditas atividades (ICMBIO, 2017; MMA, 2017).

Neste sentido, promover a propagação em cativeiro de *S. scriptum* é uma das medidas adotadas pelo LAPAD para fortalecer a conservação desta espécie. No entanto, sua condição de espécie reofílica impede a reprodução natural dos animais mantidos em condições de cativeiro (ZANIBONI-FILHO; REYNALTE-TATAJE; HERMES-SILVA, 2010). Quando mantidos em confinamento os teleósteos migradores, apresentam disfunções relacionadas aos estágios finais do processo reprodutivo (maturação final dos ovócitos, ovulação, desova e espermição), ainda que algumas espécies desse grupo possam atingir a maturação gonadal (DONALDSON; HUNTER, 1983; ZOHAR; MYLONAS, 2001).

1.2. Controle neuroendócrino da reprodução em peixes teleósteos

Em condições naturais, fatores ambientais (temperatura, fotoperíodo, condutividade da água entre outros), nutricionais (qualidade do alimento consumido, acúmulo de reservas energéticas entre outras) e sociais (tamanho corporal, proporção sexual, hierarquias entre outros) são os principais moduladores da resposta neuroendócrina para o sucesso reprodutivo de espécies reofílicas (DE VLAMING, 1972; PETER; YU, 1997; WANG et al., 2006; MIGAUD et al., 2013).

Os primeiros estudos que abordaram a neuroendocrinologia da reprodução em peixes foram desenvolvidos a partir da observação da atividade celular de hipófises enxertadas a nível intramuscular em *Poecilia formosa*, cuja própria hipófise foi removida, determinando

assim a relação entre o hipotálamo e esta glândula (OLIVEREAU; BALL, 1966). No entanto, para alguns pesquisadores foi a partir da publicação de Peter e Gill (1975), na qual o atlas estereotáxico do encéfalo frontal de *Carassius auratus* foi descrito, que os estudos sobre a neuroendocrinologia da reprodução em peixes começaram a ser desenvolvidos. O avanço do conhecimento nesta área tem sido relevante para o entendimento do processo reprodutivo em mamíferos, uma vez que a maioria dos hormônios e órgãos endócrinos envolvidos na reprodução dos teleosteos apresenta seu equivalente em mamíferos, o que tem conduzido ao uso mais frequente de peixes como biomodelos da reprodução dos vertebrados (SCHNEIDER; POEHLAND, 2009).

O processo fisiológico da reprodução em peixes é o resultado da integração de estímulos externos e internos recebidos por sistemas sensoriais específicos que os transduzem em uma cascata hormonal ao longo do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) (Figura 4) e, como o processo reprodutivo apresenta dinâmicas de caráter cíclico, os teleosteos modularam seus organismos para que a reprodução ocorresse no período do ano em que as condições ambientais são mais favoráveis para garantir a sobrevivência da prole (WELTZIEN et al., 2004; CUETO, 2009).

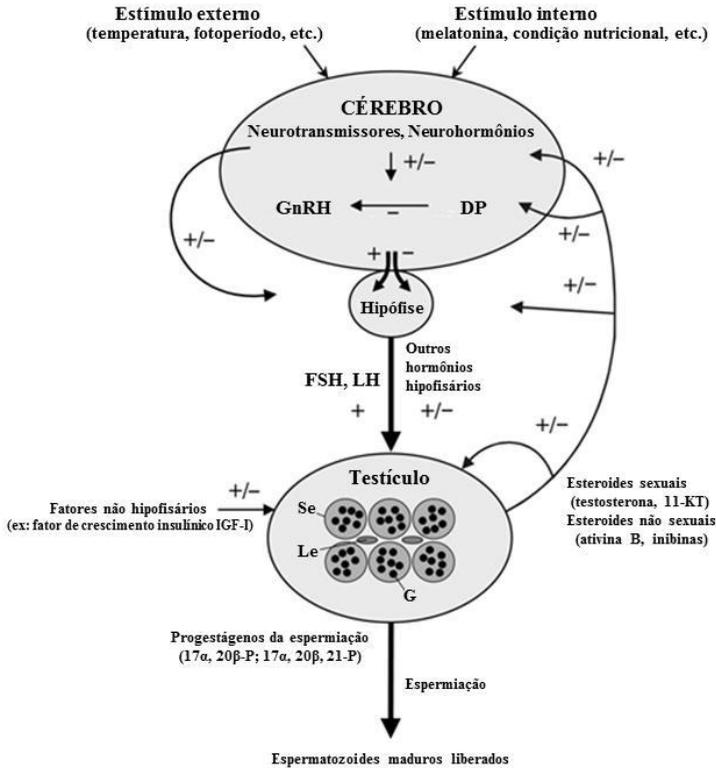
A percepção desses estímulos é regida pelo sistema nervoso, que integra e transporta esta informação até a hipófise mediante sinais neuroendócrinos, principalmente de origem hipotalâmica, como o hormônio liberador de gonadotropinas (*Gonadotropin-Releasing Hormone*, GnRH), que por vez controla e modula a síntese e a liberação de gonadotropinas, hormônios responsáveis pelo recrudescimento gonadal e posterior liberação dos gametas (WELTZIEN et al., 2004; ZANUY et al., 2009).

1.2.1. Hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH)

O GnRH é um decapeptídeo que foi isolado inicialmente em alguns vertebrados, como suínos e ovinos (AMOSS et al., 1971; MATSUO et al., 1971), sendo que desde o início da década de setenta mais de vinte formas naturais de GnRH já foram encontradas em diferentes espécies de vertebrados e invertebrados (Tabela 2).

Em peixes este hormônio foi isolado pela primeira vez do cérebro de *Oncorhynchus keta* (SHERWOOD et al., 1983).

Figura 4. Cascata hormonal ao longo do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) em machos. GnRH = hormônio liberador de gonadotropinas; DP = dopamina; FSH = hormônio foliculo-estimulante; LH = hormônio luteinizante; Se = célula de Sertoli; Le = célula de Leydig; G = células germinativas.



(Adaptado de: Weltzien et al., 2004)

Tabela 2. Sequência de aminoácidos do GnRH-I e seus 23 análogos naturais. Os aminoácidos em negrito indicam diferenças relacionadas à sequência registrada para o GnRH-I.

	Aminoácido											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Vertebrados												
Mamífero (GnRH-I)	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Leu	Arg	Pro	Gli.NH2	
Porquinho da índia	pGlu		Tir	Trp	Ser	Tir	Gli	Val	Arg	Pro	Gli.NH2	
Frango- I	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Leu	Gln	Pro	Gli.NH2	
Frango -II (GnRH- II)	pGlu		His	Trp	Ser	His	Gli	Trp	Tir	Pro	Gli.NH2	
Rã	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Leu	Trp	Pro	Gli.NH2	
Peixe-arroz	pGlu		His	Trp	Ser	Fen	Gli	Leu	Ser	Pro	Gli.NH2	
Bagre africano	pGlu		His	Trp	Ser	His	Gli	Leu	Asn	Pro	Gli.NH2	
Salmão-keta (GnRH- III)	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Trp	Leu	Pro	Gli.NH2	
Arenque do pacífico	pGlu		His	Trp	Ser	His	Gli	Leu	Ser	Pro	Gli.NH2	
<i>Seabream</i>	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Leu	Ser	Pro	Gli.NH2	
<i>Whitefish</i>	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gli	Met	Asn	Pro	Gli.NH2	
Tubarão	pGlu		His	Trp	Ser	His	Gli	Trp	Leu	Pro	Gli.NH2	
Lampreia- I	pGlu		His	Tir	Ser	Leu	Glu	Trp	Lis	Pro	Gli.NH2	
Lampreia- III	pGlu		His	Trp	Ser	His	Asp	Trp	Lis	Pro	Gli.NH2	
Invertebrados												
Polvo	pGlu	Asn	Tir	His	Fen	Ser	Asn	Gli	Trp	His	Pro	Gli.NH2
Tunicate - I	pGlu		His	Trp	Ser	Asp	Tir	Fen	Lis	Pro	Gli.NH3	
Tunicate - II	pGlu		His	Trp	Ser	Leu	Cis	His	Ala	Pro	Gli.NH4	
Tunicate - III	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Glu	Fen	Met	Pro	Gli.NH5	
Tunicate - IV	pGlu		His	Trp	Ser	Asn	Gln	Leu	Thr	Pro	Gli.NH6	
Tunicate - V	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Gln	Tir	Met	Pro	Gli.NH7	
Tunicate - VI	pGlu		His	Trp	Ser	Lis	Gln	Tir	Ser	Pro	Gli.NH8	
Tunicate - VII	pGlu		His	Trp	Ser	Tir	Ala	Leu	Ser	Pro	Gli.NH9	
Tunicate - VIII	pGlu		His	Trp	Ser	Leu	Ala	Leu	Ser	Pro	Gli.NH10	
Tunicate - IX	pGlu		His	Trp	Ser	Asn	Lis	Leu	Ala	Pro	Gli.NH2	

(Adaptado de: Schneider; Tomek; Gründker, 2006)

Síglas utilizadas: pGlu = piroglutâmico, Tir = tirosina, His= histidina, Trp = triptofano, Fen = fenilalanina, Ser = serina, Leu = leucina, Asn = asparagina, Gli = glicina, Glu = ácido glutâmico, Cis = cisteína, Asp = ácido aspártico, Gln = glutamina, Met = metionina, Val = valina, Arg = arginina, Lis = lisina, Ala = alanina, Thr = treonina, Pro = prolina.

Entre as formas naturais de GnRH existem algumas diferenças que estão associadas principalmente à sequência de aminoácidos que configuram sua estrutura, no entanto, boa parte dos aminoácidos presentes nas posições 1-4, 9 e 10 conserva-se sem apresentar algum tipo de substituição (SCHNEIDER; TOMEK; GRÜNDKER, 2006).

As diferentes formas de GnRH recebem seu nome com base na espécie para a qual foi isolada pela primeira vez (ex: Salmão = sGnRH; Lampreia = lGnRH), entretanto a possibilidade de encontrar em um mesmo animal mais de uma destas formas de GnRH fez com que a

nomenclatura utilizada se tornasse pouco prática, motivo pelo qual atualmente utiliza-se uma nomenclatura que considera, além da características moleculares, a origem de expressão do hormônio no cérebro. Assim as diferentes formas naturais de GnRH passaram a ser identificadas dentro de um mesmo animal como GnRH-I (origem: hipotálamo; presente na maioria dos vertebrados); GnRH-II (origem: mesencéfalo; presente em todos os vertebrados) e GnRH-III (origem: telencéfalo; identificada exclusivamente em peixes) (FERNALD; WHITE, 1999; DUBOIS et al., 2002; CUETO, 2009).

A liberação do GnRH no cérebro é do tipo pulsátil, e a frequência destes pulsos é específica para cada espécie, sendo que, de forma geral esta pulsação depende do nível de hormônios esteroides (ex: testosterona) e não esteroides (ex: melatonina) presentes no organismo, existindo também evidências da influência que a retroalimentação destes hormônios exerce sobre a liberação do GnRH (NUNEMAKER et al., 2003; WELTZIEN et al., 2004; SCHNEIDER; TOMEK; GRÜNDKER, 2006).

Por outro lado, devido à distribuição neuroanatômica diferenciada que os neurônios responsáveis pela síntese das três formas de GnRH apresentam, alguns autores sugerem que a sua função no organismo seja igualmente diferente, já que existem receptores para estes hormônios em diferentes tecidos somáticos (ex: fígado, rim, gônadas) (CUETO, 2009).

Todas as três formas apresentam capacidade potencial para estimular a secreção dos hormônios gonadotrópicos folículo-estimulante (*Follicle-Stimulating Hormone*, FSH) e luteinizante (*Luteinizing Hormone*, LH) pela hipófise, estímulo que é considerado a principal função do GnRH. Porém a potência de estímulo que as diferentes isoformas apresentam é variável e, pode estar relacionada com sua taxa de degradação enzimática, sua vida média de circulação e/ou com a afinidade por determinado receptor (POWELL et al., 1997; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al., 2002; SCHNEIDER; TOMEK; GRÜNDKER, 2006; CUETO, 2009; ZOHAR et al., 2010; GOMES; COSTA; BORELLA, 2013).

1.2.2. Hormônio folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH)

Atualmente sabe-se que os hormônios gonadotrópicos são os responsáveis pelo controle, de forma coordenada, da fisiologia das gônadas dos peixes, sendo que o hormônio folículo estimulante (FSH) regula as divisões mitóticas da espermatogênese e o hormônio

luteinizante (LH) a espermiogênese e a espermição (SCHULZ et al., 2010).

No entanto, durante muitos anos, acreditou-se que um único hormônio gonadotrópico (*Gonadotropin Hormone*, GtH) era o responsável por estas funções. Suzuki, Kawauchi e Nagahama (1988), reportaram pela primeira vez a existência de dois tipos diferentes de GtHs, que em teleósteos começaram a ser identificadas como gonadotropinas GtH-I e GtH-II. Porém devido à homologia estrutural e funcional que estes hormônios apresentam com as gonadotropinas identificadas em mamíferos, atualmente eles recebem o mesmo nome adotado neste grupo de vertebrados: FSH (GtH-I) e LH (GtH-II) (SCHNEIDER; POEHLAND, 2009; PLANAS et al., 2000). Estruturalmente os hormônios gonadotrópicos são glicoproteínas heterodiméricas (cadeias peptídicas com número diferente de aminoácidos) que apresentam duas subunidades (α e β) associadas por ligação não covalente. A subunidade α apresenta estrutura idêntica a de outras glicoproteínas secretadas pela hipófise, como o hormônio estimulante da tireoide (*Thyroid-Stimulating Hormone*, TSH), já a subunidade β caracteriza a especificidade biológica do hormônio. Sendo que a sequência de aminoácidos presentes no LH- β é altamente conservada na maioria dos vertebrados. A diferença da sequência de aminoácidos no FSH- β , para o qual a maior variação inclui regiões de ligação específica com o receptor, sugere que a subunidade FSH- β possa apresentar diferenças funcionais entre as espécies de teleósteos (BOIME; BEN-MENACHEM, 1999; SWANSON; DICKEY; CAMPBELL, 2003; ZANUY et al., 2009; LEVAVI-SIVAN et al., 2010).

O controle fisiológico que as gonadotropinas exercem sobre as gônadas encontra-se relacionado a dois processos principais: a gametogênese e a esteroidogênese gonadal. Para compreender este tipo de controle no organismo dos peixes, os estudos nesta área envolveram o uso de extratos purificados ou semipurificados das gonadotropinas isoladas a partir da hipófise de peixes, de modo que foi possível estabelecer que durante a gametogênese os hormônios FSH e LH podem estimular a produção testicular do hormônio esteroide 11-cetotestosterona (11-KT), que por sua vez desempenha um papel fundamental na regulação das fases iniciais da gametogênese em diversas espécies de teleósteos, como *Anguilla japonica*, *Oncorhynchus kisutch* e *Pagrus major* (SWANSON; DICKEY; CAMPBELL, 2003; ZANUY et al., 2009)

O estímulo do LH sobre as células de Leydig, responsáveis pela produção de 11-KT, pode ser maior que o estímulo produzido pelo FSH durante os estágios avançados da espermatogênese, e desta forma, para algumas espécies sugere-se que o estímulo do FSH na produção de hormônios esteroides é mais relevante durante as fases iniciais da gametogênese (JIANG et al., 2003; SWANSON; DICKEY; CAMPBELL, 2003; OHTA et al., 2007). O estímulo do FSH sobre a liberação de hormônios esteroides está relacionado com a expressão de receptores hormonais de FSH nas células de Leydig, aspecto relevante já que em mamíferos este tipo de receptores são encontrados exclusivamente nas células de Sertoli e sua interação com o FSH regula a proliferação celular das mesmas, proporcionando o suporte estrutural e nutricional essencial para as células germinativas (aspecto observado em todos os vertebrados). Cabe destacar que atualmente existem, para teleostes, evidências que apontam que o hormônio 11-KT produzido nas células de Leydig estimula nas células de Sertoli a produção de fatores como a ativina B e o fator de crescimento insulínico (IGF-I), moléculas que por sua vez estimulam a liberação de gonadotropinas influenciando assim o processo de espermatogênese (GARCÍA-LÓPEZ et al., 2009, 2010; LEVAVI-SIVAN et al., 2010; CHAUVIGNÉ et al., 2012).

A produção de gonadotropinas purificadas ou semipurificadas apresenta alto custo e demanda elevadas quantidades de material biológico (hipófises), sendo que o produto final pode apresentar contaminação com outras glicoproteínas. Por esse motivo atualmente são utilizadas gonadotropinas recombinantes (rFHS e rLH) obtidas a partir da expressão do DNA complementar (cDNA). Com o uso desta nova técnica foi possível determinar que para algumas espécies a expressão de receptores de FSH nos testículos pode ser estimulada pelo LH, embora este tipo de interação cruzada não seja muito clara em condições *in vivo* (CUETO, 2009; LEVAVI-SIVAN et al., 2010).

A liberação das gonadotropinas, como mencionado anteriormente, está regulada diretamente pelo neurohormônio GnRH, sendo que outras substâncias químicas, como o neuropeptídeo Y (NPY), o ácido gama aminobutírico (GABA), a serotonina e a kisspeptina desempenham papéis relevantes como estimulantes diretos ou indiretos da liberação destes hormônios. Além da retroalimentação negativa que os hormônios esteroidais exercem sobre a liberação das gonadotropinas, a dopamina é considerada um importante inibidor da liberação destes hormônios para muitas espécies de água doce, entre elas os bagres *Clarias gariepinus* e *Clarias batrachus* (VAN ASSELT et al., 1990;

CUETO, 2009; LEVAVI-SIVAN et al., 2010; SINGH; KUMAR; SINGRU, 2012). A intensidade com que a dopamina pode exercer esta função inibitória varia entre as espécies de teleósteos, sendo uma barreira relevante em ciprinídeos e muito mais sutil em salmonídeos. A inibição de tipo dopaminérgica sobre a liberação de gonadotropinas não acontece em todos os teleósteos, sendo que para algumas espécies marinhas, como *Micropogonias undulatus* e *Sparus aurata*, este tipo de relação ainda não foi estabelecida (DUFOR et al., 2010).

Em peixes a dopamina pode regular a secreção de outros hormônios hipofisários como o hormônio de crescimento (*growth hormone*, GH). Em estudos *in vitro* há evidências que apontam que o mediador da ação do GH, o fator de crescimento insulínico IGF-I, pode induzir a liberação de LH, assim como incrementar o estímulo do GnRH sobre a liberação do FSH durante a fase juvenil de algumas espécies como *Anguilla anguilla*, *Oncorhynchus mykiss* e *Oncorhynchus kisutch*. Estes estudos indicam que o papel que desempenha este polipeptídeo é crucial para o estímulo da primeira maturação sexual em peixes (HUANG et al., 1998; WEIL et al., 1999; BAKER et al., 2000; CANOSA; CHANG; PETER, 2007; LEVAVI-SIVAN et al., 2010).

1.2.3. Espermatogênese e morfologia testicular

Em mamíferos a puberdade é o processo que permite a um animal atingir pela primeira vez a sua capacidade reprodutiva. Para os peixes, a primeira maturação sexual, como nos mamíferos, é caracterizada pelo início dos processos de espermatogênese e ovogênese, de tal forma que em machos o primeiro ciclo reprodutivo é atingido quando o animal tem a capacidade de liberar espermatozoides no lúmen do túbulo seminífero (OKUZAWA, 2002).

Embora a precocidade de algumas espécies para atingir a primeira maturação sexual seja um dos maiores problemas que enfrenta a indústria piscícola dedicada à engorda e comercialização de animais para o consumo humano, quando o objetivo é o fornecimento das formas jovens ou a comercialização de ovas (caviar), o atraso dos juvenis para atingir o primeiro ciclo reprodutivo pode elevar os custos de manutenção destes animais (TARANGER et al., 2010). Neste sentido, identificar os fatores que podem influenciar a primeira maturação de uma espécie em particular é um aspecto relevante para a compreensão dos mecanismos básicos relacionados com este processo, ao mesmo tempo em que se aporta informação relevante para a indústria piscícola (CARRILLO et al., 2009).

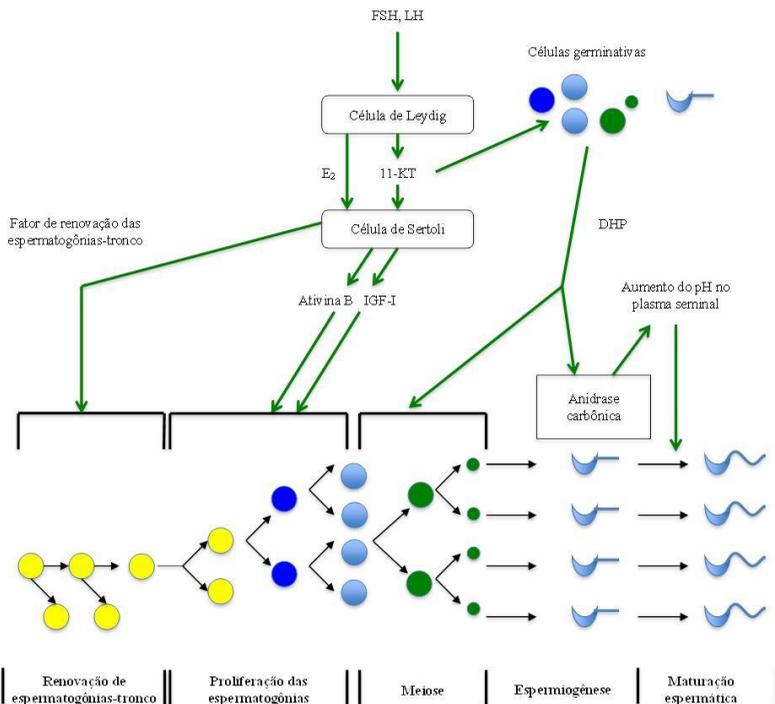
Fatores externos (ex: fotoperíodo, temperatura, disponibilidade de alimentos) e internos (ex: esteroides sexuais, fator de crescimento insulínico, leptinas) são os responsáveis pelo início da espermatogênese em peixes, e como alguns destes fatores podem ser manipulados em condições de cativeiro, frequentemente observa-se que os animais nestas condições iniciam sua espermatogênese precocemente, de modo que o tamanho e a idade de primeira maturação sexual nestes animais são menores que os de animais capturados na natureza (TARANGER et al., 2010).

O processo de espermatogênese compreende um conjunto de eventos que envolve modificações morfológicas e fisiológicas das células germinativas como resposta ao estímulo exercido por diferentes hormônios. Este processo encontra-se dividido em fases claramente estabelecidas para os peixes, que começam pelas divisões mitóticas de renovação nas espermatogônias-tronco e de proliferação das espermatogônias. Após este processo as células iniciam a divisão meiótica para dar origem às espermátides haploides, e posteriormente tem lugar o processo de diferenciação celular destas células para formar os espermatozoides flagelados que serão liberados no lúmen testicular para sua posterior maturação, adquirindo sua capacidade plena de fertilização (Figura 5) (BILLARD, 1986; SCHULZ et al., 2010; YARON; LEVAVI-SIVAN, 2011; MYLONAS; DUNCAN; ASTURIANO, 2017).

Segundo De Rooij e Russell (2000) existem dois grandes grupos de espermatogônias: as indiferenciadas, que abrangem as espermatogônias de tipo A (incluindo as espermatogônias-tronco), e as espermatogônias diferenciadas, que abrangem as espermatogônias tipo intermediário e tipo B. Esses três tipos de espermatogônias configuram a base celular para que o processo de espermatogênese seja possível, e neste sentido o número de divisões mitóticas (8-9 divisões por célula) possibilitam o aumento inicial do número de células germinativas, ao mesmo tempo em que regula o número de células germinativas presentes no tecido germinativo, de modo a garantir uma proporção adequada entre as células germinativas e as de Sertoli.

Alguns autores sugerem que o início das divisões mitóticas nas espermatogônias-tronco seria promovido pela ação do hormônio 17β -estradiol (E_2) produzido nas células de Leydig, cuja ação sobre as células de Sertoli possivelmente estimula a produção do fator de renovação das espermatogônias-tronco (*gonadal soma-derived growth factor*, GSDF) (MIURA; MIURA, 2003; YARON; LEVAVI-SIVAN, 2011).

Figura 5. Regulação endócrina da espermatogênese em teleósteos.



(Adaptado de: Yaron e Levavi-Sivan, 2011)

Subsequente a este processo, o hormônio 11-KT estimularia a proliferação das espermatogônias mediante a ação de fatores como a ativina B e o IGF-I, e assim que as novas células surgem elas são envolvidas pelas células de Sertoli, formando cistos dentro dos quais os três tipos de espermatogônias continuam seus processos de divisão mitótica para formar um conjunto de células interconectadas denominado de espermatocistos (YARON; LEVAVI-SIVAN, 2011; QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER, ISHIBA, 2013).

No interior destas estruturas as espermatogônias de tipo B iniciam a sua primeira divisão meiótica para dar origem aos espermatócitos e estes por sua vez completam a segunda divisão meiótica ao interior dos espermatocistos (apenas em espécies com desenvolvimento gonadal cístico) dando origem às espermátides, células

que ao passar por um processo de diferenciação celular (espermiogênese) darão origem aos espermatozoides que posteriormente serão liberados no lúmen testicular para sua posterior maturação. Esses dois processos são regulados pelo hormônio $17\alpha, 20\beta$ -dihidroxi-4-pregnen-3-one (DHP) produzido nas próprias células germinativas a partir do hormônio 11-KT (SAKAI et al., 1989; SCHULZ et al., 2010; QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER, ISHIBA, 2013).

Em algumas espécies de peixes os espermatozoides liberados no lúmen são considerados gametas sem funcionalidade, de tal forma que ainda são necessárias algumas mudanças de caráter fisiológico (maturação espermiática), para que os espermatozoides adquiram a sua capacidade completa de fertilização (SCHULZ et al., 2010).

Alguns autores sugerem que estas mudanças estão reguladas pelo hormônio esteroide DHP cuja ação sobre os espermatozoides ativa a enzima anidrase carbônica promovendo o aumento do pH no plasma seminal, que por sua vez aumenta os níveis de mensageiros intracelulares como o cAMP (*cyclic adenosine monophosphate*) no espermatozoide, o que possibilita a sua motilidade (MIURA; MIURA, 2003; SCHULZ et al., 2010).

O desenvolvimento dos diferentes estágios das células germinativas ao longo do tempo caracteriza o desenvolvimento testicular dos peixes. No entanto, é a abundância de espermatozoides presentes na gônada ao longo do ano, o fator que caracteriza uma espermatogênese do tipo sazonal ou contínua (BILLARD, 1986).

Por outro lado, o desenvolvimento gonadal pode ser classificado como cístico, quando a ruptura dos espermatocistos libera espermatozoides no lúmen testicular ou de semi-cístico, quando a ruptura libera espermatídes, e os subsequentes processos de diferenciação celular acontecem no lúmen (MYLONAS; DUNCAN; ASTURIANO, 2017).

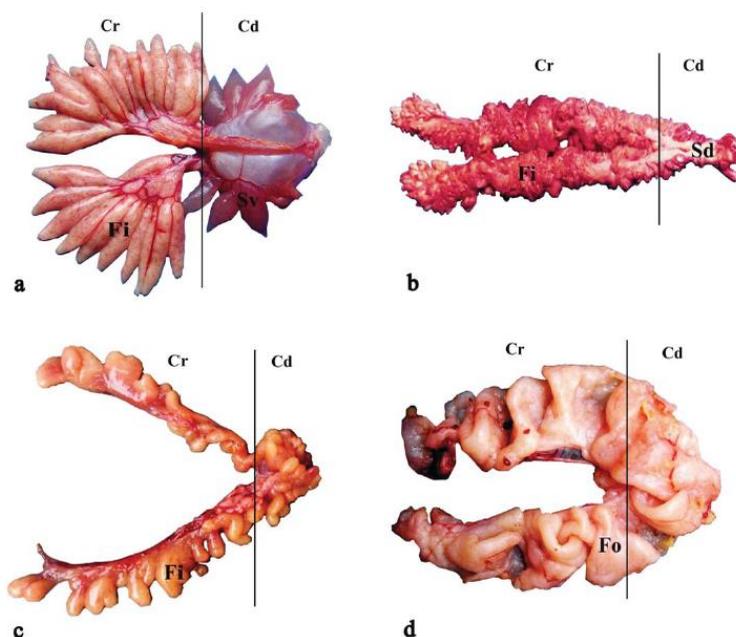
O tipo de maturação gonadal que apresenta a maioria de Siluriformes machos pode ser considerado de tipo assincrônico, com desenvolvimento espermatogonial restrito (ex: vesícula seminal na região caudal da gônada) ou irrestrito, devido à presença de todos os estágios de desenvolvimento das células germinativas (MAZZOLDI; LORENZI; RASOTTO, 2007; SCHULZ et al., 2010; MELO et al., 2011; MYLONAS; DUNCAN; ASTURIANO, 2017).

O sistema reprodutivo dos Siluriformes, especialmente os testículos dos machos, apresenta uma ampla variedade de características morfológicas (Figura 6), como a presença de lóbulos digitiformes (franjas) ao longo do testículo, como observado em *R. quelen*

(GHIRALDELLI et al., 2007) ou de gônadas sólidas (sem franjas) e alongadas como as presentes em *Callichthys callichthys* (MAZZOLDI; LORENZI; RASOTTO, 2007).

Segundo Melo et al. (2011), estas características podem estar associadas às diferentes estratégias reprodutivas observadas nesta ordem taxonômica. Independentemente da anatomia do testículo, a maioria dos Siluriformes que apresentam posição de destaque na piscicultura mundial produzem um elevado volume de sêmen, condição que facilita a coleta do sêmen mediante leve pressão abdominal durante os procedimentos de reprodução em cativeiro.

Figura 6. Características macroscópicas do testículo maduro de alguns Siluriformes. a) *Trachelyopterus galeatus*. b) *Pseudoplatystoma corruscans*. c) *Lophiosilurus alexandri*. d) *Rhinelepis aspera*. Cr = região cranial. Cd = região caudal. Fi = lóbulos filiformes (franjas digitiformes). Sv= vesícula seminal. Sd = ducto espermático. Fo = lóbulos dobrados.



(Fonte: Melo et al., 2011)

No entanto, em algumas espécies como *Ictalurus punctatus*, as células da linha germinativa não estão presentes ao longo de todo o testículo (espermatogonial restrito), uma vez que a região caudal só apresenta células com atividade secretora (SNEED; CLEMENS, 1963). Para alguns autores a presença de lóbulos digitiformes e o tecido glandular na região caudal do testículo dificultam a coleta de sêmen mediante pressão abdominal o que torna a coleta de sêmen bastante trabalhosa e dispendiosa, sendo necessário o abate de reprodutores em espécies como *Pimelodus maculatus* e *Clarias gariepinus* (SATO et al., 1999; VIVEIROS; EDING; KOMEN, 2001).

Considerando-se que o tipo de fertilização observada em Siluriformes pode ser interna (*Trachelyopterus galeatus*), externa (*Pseudoplatystoma corruscans*) ou, inclusive, através da passagem do trato digestório (*Corydoras aeneus*, inseminação tipo *sperm drinking*) (KOHDA et al., 1995; MAZZOLDI; LORENZI; RASOTTO, 2007; MELO et al., 2011), a descrição do testículo de machos de *S. scriptum* torna-se um aspecto relevante para a identificação da melhor estratégia reprodutiva, bem como para a sugestão de alternativas que facilitem a propagação desta espécie em cativeiro.

1.3. Indução hormonal

As bases da indução hormonal como ferramenta para superar as disfunções do processo reprodutivo observado em espécies reofílicas surgiram no início da década de 30 na América do Sul, quando o argentino Bernardo Houssay publicou seus estudos sobre a importância do lóbulo anterior da hipófise na atividade sexual dos peixes. Com base neste estudo o pesquisador brasileiro Rodolpho von Ihering idealizou a técnica de hipofisação, ao aplicar em reprodutores as gonadotropinas naturais presentes na hipófise, conseguindo assim, pela primeira vez, resultados positivos na indução a desova e na espermiação de uma espécie reofílica em condições de cativeiro (NETO; RIBEIRO, 1946; ZANIBONI-FILHO; WEINGARTNER, 2007).

As terapias hormonais mais usadas incluem aplicações intramusculares e/ou intraperitoneais de indutores hormonais como: extratos de hipófises de mamíferos, aves e peixes; extratos purificados de gonadotropinas (ex: gonadotropina coriônica humana), assim como o uso de análogos sintéticos das isoformas do GnRH-I, GnRH-II e GnRH-III. Cabe destacar que os análogos sintéticos (GnRH-a) podem ser aplicados por meio de injeções ou de implantes de liberação lenta, permitindo a produção de gonadotropinas endógenas cuja ação sobre as

gônadas é mais eficiente, melhorando assim o estímulo na produção de hormônios esteroides (STREIT JR et al., 2003; INGRAM et al., 2005; MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010; HAFEEZ-UR-REHMAN et al., 2015; MARTINS et al., 2017).

O extrato pituitário de carpa (EPC) é coletado de exemplares que apresentam características externas de animais sexualmente maduros e à espera dos estímulos ambientais adequados para que a reprodução tenha lugar, no entanto, o teor de gonadotropinas presentes na hipófise no momento da sua coleta está sujeito a variações individuais próprias das condições fisiológicas e genéticas dos animais coletados (MELAMED et al., 1998; ZANIBONI-FILHO; WEINGARTNER, 2007). Estas variações, somadas à possibilidade de transmissão de doenças e ao alto custo que o EPC pode alcançar no mercado (ZANIBONI-FILHO, 1995; CEJKO et al., 2012; BRABO et al., 2015) são alguns dos aspectos que incentivam a procura por alternativas ao uso do EPC como promotor da maturação final em espécies reofílicas (BRITZ, 1991; STREIT JR et al., 2003; MYLONAS; ZOHAR, 2007; ANDRADE et al., 2015).

Neste sentido o uso do GnRH-a ganha cada vez mais espaço no setor piscícola, uma vez que este tipo de produtos sintéticos apresentam alta estabilidade molecular, zero risco biológico, homogeneidade entre os lotes e que sua estrutura (peptídeos) não estimula reações imunológicas nos reprodutores, evitando a resistência a sucessivos programas de indução hormonal (MYLONAS; FOSTIER; ZANUY, 2010; VAZIRZADEH et al., 2011; ITTZÉS et al., 2015)

Entre os análogos de GnRH utilizados em Siluriformes neotropicais o Ovaprim®, hormônio liberador de gonadotropinas do salmão (sGnRH-a), associado a um agente antidopaminérgico vem sendo utilizado para promover a desova e/ou a espermiacção em *Rhamdia quelen* (ITTZÉS et al., 2015), *Pseudoplatystoma fasciatum* (NUÑEZ et al., 2008), *Pimelodus pictus* (HILL et al., 2009), apresentando ótimos resultados. Por outro lado, o acetato de buserelina, um análogo do hormônio liberador de gonadotropinas de mamíferos (mGnRH-a) com amplo sucesso no tratamento de disfunções reprodutivas em vertebrados, tem sido pouco testado em peixes. Resultados positivos de desova e/ou espermiacção foram relatados para *P. lineatus* (ANDRADE et al., 2015), *Brycon orbignyanus* (PAULINO et al., 2011) e *Piaractus brachypomus* (CHAVES-MORENO et al., 2012).

1.4. Qualidade espermática

Embora o uso adequado de indutores hormonais permita que a maturação final das espécies reofílicas ocorra em confinamento, o sucesso reprodutivo pode apresentar incertezas, uma vez que promover a desova ou a espermiacção de um animal não garante a obtenção de gametas com alta qualidade. Por esta razão é fundamental maximizar as taxas de fertilização e o desenvolvimento embrionário, porém a qualidade dos gametas é influenciada por diferentes fatores internos e externos ao organismo, assim como por algumas praticas de manejo (BOBE; LABBÉ, 2010).

Para a determinação da qualidade espermática em peixes os principais parâmetros monitorados são o volume e a cor do sêmen, a composição do plasma seminal, a motilidade espermática, a morfologia e a concentração dos espermatozoides (STREIT JR et al., 2008; BOBE; LABBÉ, 2010; MYLONAS; DUNCAN; ASTURIANO, 2017).

A importância da qualidade dos espermatozoides tem sido ofuscada pela importância dada à qualidade dos ovócitos, o que conduz à ignorância quanto ao uso frequente de sêmen de baixa qualidade durante a reprodução artificial (RURANGWA et al., 2004).

Para alguns autores a motilidade espermática é o parâmetro que melhor representa a qualidade dos gametas de um reprodutor, uma vez que existe uma elevada correlação entre este parâmetro e as taxas de fertilização e eclosão (BOBE; LABBÉ, 2010; MYLONAS; DUNCAN; ASTURIANO, 2017). Embora durante muitos anos a motilidade espermática tenha sido avaliada por metodologias subjetivas que dependiam do nível de treinamento do responsável por sua aplicação, atualmente são utilizados sistemas computadorizados (*Computer Assisted Sperm Analysis - CASA*) que permitem uma análise objetiva da qualidade espermática (MATOS et al., 2008; FAUVEL; SUQUET; COSSON, 2010; SANCHES et al., 2010).

Estes sistemas avaliam o movimento individual dos espermatozoides mediante a análise detalhada de imagens sucessivas captadas através de vídeo. Entre as vantagens deste sistema encontra-se a possibilidade de quantificar um elevado número de células simultaneamente ainda que estas apresentem um padrão de motilidade heterogêneo, permitindo a obtenção de dados de motilidade e velocidade espermática. Basicamente os parâmetros de movimentação espermática, produzidos pelo CASA, que são mais utilizados como ferramentas de apoio para determinar a qualidade dos gametas em peixes são: motilidade espermática (%) (MOT - taxa de espermatozoides em

movimento), velocidade curvilínea ($\mu\text{m/s}$) (VCL – velocidade da trajetória real do espermatozoide), velocidade média do deslocamento ($\mu\text{m/s}$) (VMD – velocidade da trajetória média do espermatozoide), velocidade em linha reta ($\mu\text{m/s}$) (VLR – velocidade média em função da linha reta estabelecida entre o primeiro e o último ponto da trajetória do espermatozoide) e retilinearidade (%) (RET- relação percentual entre VLR e VMD que estima quão próxima de uma linha reta se encontra a trajetória espermática) (MATOS et al., 2008).

2. JUSTIFICATIVA

O suruvi *S. scriptum* é uma espécie que vem apresentando ótimos índices de desempenho zootécnico em condições experimentais de criação. Além disso, destaca-se que sua carne é considerada nobre e o rendimento em carcaça não apresenta diferenças entre machos e fêmeas (MEURER; ZANIBONI-FILHO, 2000; SCHÜTZ et al., 2008; MAGHELLY et al., 2014). No entanto, sua condição de espécie ameaçada de extinção, sua baixa diversidade nucleotídica, assim como a crescente pressão antrópica sobre seu habitat natural e a dificuldade para alcançar o sucesso reprodutivo em condições de cativeiro (ZANIBONI-FILHO; REYNALTE-TATAJE; HERMES-SILVA, 2010; PAIXÃO, 2016; MMA, 2017) são aspectos que estimulam a realização de estudos voltados ao entendimento da sua fisiologia reprodutiva com o intuito de desenvolver estratégias que fomentem seu aproveitamento sustentável como recurso aquícola para indústria piscícola e possibilite sua conservação no ambiente natural.

Por outro lado, fatores relacionados às condições ambientais podem produzir variações no desenvolvimento gonadal dos peixes, afetando a qualidade dos seus gametas e o seu desempenho reprodutivo (ARANTES et al., 2010; BOBE; LABBÉ, 2010), razão pela qual avaliar a influência das condições ambientais de criação sobre o desempenho zootécnico e o desenvolvimento gonadal no *S. scriptum*, é um aspecto a ser explorado para melhorar o manejo de exemplares adultos em condições de cativeiro e ao mesmo tempo compreender sua dinâmica reprodutiva neste tipo de ambiente, para assim aproveitar ao máximo o período reprodutivo e tornar mais eficiente os programas de propagação artificial.

Neste sentido, o único indutor hormonal testado com sucesso no *S. scriptum* é o extrato pituitário de carpa (ZANIBONI-FILHO; REYNALTE-TATAJE; HERMES-SILVA, 2010), sendo, portanto, necessário avaliar outros indutores hormonais, de modo a encontrar novas alternativas para o sucesso reprodutivo desta espécie em condições de cativeiro.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Caracterizar o desenvolvimento gonadal durante a primeira maturação sexual e avaliar a qualidade do sêmen em exemplares machos de *Steindachneridion scriptum* mantidos em condições de cativeiro.

3.2. Objetivos específicos

- a) Descrever a maturação gonadal em machos de *S. scriptum*, com base nas mudanças macroscópicas e microscópicas das gônadas ao longo do ciclo reprodutivo observado em animais mantidos em cativeiro.
- b) Definir o tamanho e a idade de primeira maturação sexual em machos de *S. scriptum* mantidos em condições de criação.
- c) Estimar a idade de primeira maturação sexual dos machos de *S. scriptum* mediante o uso de um modelo de crescimento.
- d) Avaliar a influência de análogos do GnRH sobre a qualidade do sêmen em reprodutores de *S. scriptum* criados em condições de laboratório.
- e) Avaliar a viabilidade econômica do uso de análogos de GnRH como alternativa ao uso do EPC como indutor da espermiacão em reprodutores de *S. scriptum*.

4. FORMATAÇÃO DOS ARTIGOS

Os artigos apresentados nesta Tese estão redigidos segundo as normas das revistas *Aquaculture* (Qualis A2) e *Animal Reproduction Science* (Qualis B1).

O artigo do Capítulo 1, intitulado “Influência das condições de criação sobre o desempenho zootécnico e a primeira maturação sexual em machos de *Steindachneridion scriptum*”, será submetido à revista *Aquaculture*.

<https://www.elsevier.com/journals/aquaculture/0044-8486/guide-for-authors>

O artigo do Capítulo 2, intitulado “Uso de análogos de GnRH como promotores da espermiacção em *Steindachneridion scriptum*”, será submetido à revista *Animal Reproduction Science*.

<https://www.elsevier.com/journals/animal-reproduction-science/0378-4320/guide-for-authors>

**Capítulo 1: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE CRIAÇÃO
SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E A PRIMEIRA
MATURAÇÃO SEXUAL EM MACHOS DE
*Steindachneridion scriptum***

Jhon Edison Jimenez^{a*}, Alex Pires de Oliveira Nuñez^a

^aLaboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Francisco Thomaz dos Santos, 3532, Florianópolis, Santa Catarina, CEP 88066-260, Brasil.

*Autor para correspondência. Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Francisco Thomaz dos Santos, 3532, Florianópolis, Santa Catarina, CEP 88066-260, Brasil. Telefone: +55 48 3721 6300.

Endereço eletrônico: jejimenezro@gmail.com (J.E. Jimenez), alex.nuner@ufsc.br (A.P.O. Nuñez).

RESUMO

A determinação da idade de primeira maturação sexual, considerando-se como base as mudanças microscópicas das células germinativas de *Steindachneridion scriptum*, é uma condição importante para o estabelecimento de estratégias para o desenvolvimento da produção desta espécie em cativeiro. Realizamos a descrição das fases do desenvolvimento gonadal em machos submetidos a duas condições de criação, e avaliamos a relação destas condições com o desempenho zootécnico e a primeira maturação sexual. Peixes com quatro meses de idade foram estocados em condição de laboratório (*indoor*: 250 peixes em caixas de 750 L acopladas a um sistema de recirculação) e em condição externa (*outdoor*: 480 peixes em tanque-rede de 8,0 m³). Durante vinte meses de criação o desempenho zootécnico e as fases da espermatogênese foram acompanhados através de biometrias e coletas mensais das gônadas. Os animais atingiram peso final médio de 436,78 ± 26,13 g no ambiente *indoor* e de 107,02 ± 32,30 g no ambiente *outdoor*, com sobrevivência superior a 80% em ambos os ambientes. O ganho em peso, o ganho em comprimento, a taxa específica de

crescimento e a taxa de retenção proteica foram influenciadas pelas condições de criação. O crescimento dos animais submetidos às condições de criação *indoor* e *outdoor* foi descrito pelo modelo de Ohnishi ($P < 0,001$). Foram constatadas cinco fases do desenvolvimento gonadal: imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma, regressão e regeneração. A primeira maturação sexual dos machos mantidos no ambiente *indoor* foi atingida aos 13 meses de idade, com comprimento médio total de $28,50 \pm 2,15$ cm, e no ambiente *outdoor* aos 22 meses de idade e $20,96 \pm 1,86$ cm.

Palavras-chave: cativoiro, crescimento, maturação gonadal, suruvi.

Highlights

- Foram registrados o tamanho e a idade da primeira maturação sexual para os machos de *Steindachneridion scriptum* em condições externas e de laboratório.
- O estudo apresenta a descrição microscópica e macroscópica dos testículos de machos desta espécie durante o ciclo reprodutivo.
- O estudo analisa o crescimento de *S. scriptum* em sistema de criação *indoor* e *outdoor*.

ABSTRACT

The determination of the age of the first sexual maturation based on the microscopic changes of the germinative cells of *Steindachneridion scriptum* is an important issue because it helps to define strategies for the development of the production of this species in captivity. We described the stages of gonadal development in two breeding conditions, and the relationship between these conditions with the zootechnical performance and the first gonadal maturation of males. Four-month-old fish were stocked under laboratory condition (*indoor*: 250 fish in 750 L polyethylene boxes) and external condition (*outdoor*: 480 fish in 8.0 m³ net cage). For twenty months of breeding the zootechnical performance and the phases of spermatogenesis were monitored through biometries and monthly sampling of gonads. The animals reached an average final weight of 436.78 ± 26.13 g in the *indoor* condition and 107.02 ± 32.30 g

in the outdoor environment, with a survival greater than 80% in both conditions. The weight gain, length gain, specific growth rate and protein retention rate were influenced by the conditions of farming. The growth observed in the animals submitted to the indoor and outdoor conditions was described by the Ohnishi model ($P < 0.001$). Five stages of gonadal development were established: immature, maturing, ripe, regression and recovering. The first gonadal maturation of the males kept in indoor environment was registered at the age of 13 months, with average length of 28.50 ± 2.15 cm, condition that was reached by males kept in outdoor condition at 22 months of age and length of 20.96 ± 1.86 cm.

Keywords: captivity, growth, sexual maturation, suruvi.

Highlights:

- It was found the size and age of the first sexual maturation for males of *Steindachneridion scriptum* under external and laboratory conditions.
- Microscopic and macroscopic description of the testis over the reproductive cycle.
- Analysis of the growth in *S. scriptum* in indoor and outdoor systems.

1. INTRODUÇÃO

A primeira maturação sexual dos machos em algumas espécies de teleósteos é caracterizada pelo início do processo de espermatogênese, de tal forma que o primeiro ciclo reprodutivo destes animais é atingido quando os juvenis obtêm a capacidade de liberar espermatozoides no lúmen do túbulo seminífero (Okuzawa, 2002). A precocidade com que os machos atingem pela primeira vez a capacidade reprodutiva pode ser relacionada com suas taxas de crescimento somático, uma vez que a relação positiva entre o crescimento e a idade de primeira maturação sexual tem sido observada tanto em espécies de água doce (*Oncorhynchus masu*) quanto em espécies marinhas (*Hippoglossus hippoglossus*) (Amano et al., 1997; Huang et al., 1998; Norberg et al., 2001; Okuzawa, 2002).

Fatores externos (ex: fotoperíodo, temperatura, disponibilidade de alimentos) e internos (ex: esteroides sexuais, fator de crescimento insulínico, leptinas) são os responsáveis pelo início da primeira

maturação sexual em peixes, sendo que alguns destes fatores podem ser manipulados para acelerar ou retardar a primeira maturação sexual de uma determinada espécie (Taranger et al., 2010). Neste sentido, os custos que envolvem a manutenção dos juvenis até o primeiro ciclo reprodutivo podem ser reduzidos quando se atinge com precocidade esta condição fisiológica (Okuzawa, 2002).

O crescimento é um importante processo fisiológico que pode influenciar a fecundidade e a qualidade dos gametas dos peixes (Trippel et al., 1997), sendo o hormônio de crescimento (GH) o principal responsável pela produção e liberação hepática do fator de crescimento insulínico tipo I (IGF-I), cuja interação com o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) em algumas espécies está relacionada com os processos de maturação gonadal durante o período reprodutivo (Reinecke, 2010).

Diversas funções matemáticas envolvendo as variáveis biométricas, de peso e comprimento, são utilizadas para descrever o crescimento individual que um organismo atinge em determinadas condições ambientais (Karkach, 2006). Para a maioria das espécies produzidas em piscicultura o crescimento observado ajusta-se ao modelo matemático desenvolvido por von Bertalanffy, que considera o tamanho do corpo como uma função da idade (von Bertalanffy, 1938). No entanto, a equação clássica deste modelo não considera o gasto energético dispendido no processo reprodutivo. Devido a essa restrição, Ohnishi et al. (2012) sugeriram um modelo no qual a proporção de energia destinada para reprodução é modificada com o incremento da idade, o que produz uma curva do tipo logística cujo ponto de inflexão marca a primeira maturação sexual do peixe.

O suruvi (*Steindachneridion scriptum*) é uma espécie reoflíca cuja distribuição se restringe às bacias hidrográficas do Alto rio Paraná e do rio Uruguai (Agostinho et al., 2008; MMA, 2017). No entanto, está classificada no status “em perigo de extinção” pelo Ministério do Meio Ambiente (Portaria nº 445 de 17 de dezembro de 2014).

Com o objetivo de aumentar a possibilidade de utilização de *S. scriptum* como um recurso para a indústria piscícola e gerar subsídios para sua conservação, o presente estudo descreve e relaciona as fases do desenvolvimento gonadal desta espécie com o desempenho e a precocidade em que os machos atingem a primeira maturação sexual quando mantidos em condições externas (*outdoor*) e em laboratório (*indoor*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Origem dos peixes e delineamento experimental

Neste estudo foram utilizados juvenis de *S. scriptum* com peso médio de $20,92 \pm 0,29$ g e comprimento total $12,38 \pm 0,05$ cm (média \pm desvio padrão), obtidos por reprodução induzida de matrizes F1, cuja linhagem deriva de reprodutores selvagens provenientes da bacia do alto rio Uruguai.

Os juvenis foram mantidos em dois sistemas de criação: *indoor* e *outdoor*. Os animais mantidos *indoor* permaneceram dentro das instalações do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD) na cidade de Florianópolis (altitude média 2,7 m) ($27^{\circ}43'44.0''S$ $48^{\circ}30'32.4''W$) e foram estocados na densidade de 25 peixes (35 peixes/m³) em três caixas de polietileno com volume útil de 710 L, abastecidas por um sistema de recirculação de água com temperatura controlada em torno de 26 °C e taxa de renovação de $11,00 \pm 1,04$ L/s, sob fotoperíodo controlado (12 horas de luz : 12 horas de escuro). Duas unidades de reposição de peixes foram mantidas na mesma densidade e em outra caixa foram estocados 125 peixes, de modo a garantir que a densidade de estocagem ($n = 250$) fosse mantida nas unidades experimentais durante o período de coleta de gônadas. Deste modo, os peixes amostrados para a coleta de gônadas nas unidades experimentais, bem como os que morreram naturalmente, foram substituídos por animais de tamanho similar, que permaneceram em iguais condições de criação.

No sistema *outdoor* os juvenis foram mantidos nas instalações da EPAGRI, localizada no município de Caçador (altitude média 920 m), na região meio-oeste do estado de Santa Catarina, Brasil ($26^{\circ}50'44.1''S$, $50^{\circ}58'23.9''W$). Neste local, 280 peixes (35 peixes/m³) foram estocados em um tanque-rede de $8,0$ m³ ($2m \times 2m \times 2m$) com tamanho de malha de $1,0$ cm, instalado em uma lagoa artificial de dois hectares de lâmina de água, sob a influência das condições naturais características da região. Em um segundo tanque-rede com as mesmas características foram mantidos animais para reposição ($n=200$).

Todos os procedimentos deste estudo seguiram o Protocolo CEUA PP00788, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina.

2.2. Aspectos gerais do manejo

A estocagem dos animais nas unidades experimentais nos sistemas *indoor* e *outdoor* foi realizada quando os juvenis de *S. scriptum* apresentavam quatro meses de idade e aceitavam ração comercial de 2,0 mm. Os peixes mantidos em cada condição de criação foram alimentados duas vezes por dia até a saciedade aparente com ração comercial extrusada (40% de proteína bruta), ofertada as 09:00 h e às 16:00 h, de março de 2014 a novembro de 2015 (621 dias). No sistema *indoor* o consumo de ração foi quantificado diariamente e os pellets não consumidos 20 min após o término da alimentação foram contados e removidos das caixas no laboratório, possibilitando estimar o consumo diário aparente. Dada a dificuldade de acesso ao interior do tanque-rede, no sistema *outdoor* o número de pellets não consumidos foi obtido por estimativa.

A temperatura, o pH, a condutividade elétrica, a salinidade e a concentração de oxigênio dissolvido (OD) foram monitoradas diariamente, utilizando uma sonda multiparâmetro YSI (Pro Plus). As concentrações de amônia total ($\text{NH}_4 + \text{NH}_3$) e de nitrito (N-NO_2) foram mensuradas uma vez por semana, utilizando um fotocolorímetro AT 10P. A alcalinidade e a dureza foram avaliadas uma vez por semana através do método de titulação. Nos tanques-rede a transparência da água foi monitorada diariamente na parte externa com um disco de Secchi.

Dois vezes por semana o fundo das caixas de polietileno do sistema *indoor* foi sifonado para a remoção de sedimentos e após esse procedimento foi realizado o ajuste da vazão de entrada de água em cada unidade experimental. No sistema *outdoor* os tanques-rede foram substituídos por novas estruturas com as mesmas características aos dez meses de experimentação, de modo a garantir a qualidade da água no interior dos mesmos.

2.3. Biometrias e variáveis de desempenho

Biometrias mensais foram realizadas utilizando amostras de 15 peixes de cada unidade experimental do sistema *indoor* e em 45 peixes do sistema *outdoor*, previamente submetidos a jejum de 24 h. Durante os meses de junho e julho (inverno) não foram realizadas biometrias no sistema *outdoor*, de modo a evitar a ocorrência de mortalidade em decorrência do manejo.

Devido à ausência de dimorfismo sexual em *S. scriptum*, durante as biometrias mensais os peixes receberam uma leve pressão abdominal na tentativa de identificar indícios de espermiacção. Quando havia liberaçção de sêmen o animal era anestesiado com eugenol (60 mg/L), e recebia um marcador PIT-tag, que era implantado intramuscularmente na regiçção dorsal com o intuito de diferenciar os machos que atingiram a maturaçção gonadal das fêmeas presentes na unidade experimental.

Para avaliar o crescimento foram mensurados o peso (g) e o comprimento total (cm), com uma balança eletrônica e um ictiômetro, respectivamente. As variáveis de desempenho estimadas foram: Ganho em peso (GP; g) = (peso final - peso inicial); Ganho em comprimento (GC; cm) = (comprimento final - comprimento inicial); Biomassa total (BT; kg) = (somatória do peso individual dos peixes da unidade experimental); Taxa de crescimento específico (TCE; %) = $\{[(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{ tempo de criaçção}] \times 100\}$; Consumo diário de raçção por peixe (CDR; g) = $[(\text{consumo total} / \text{número de peixes}) / \text{dias de alimentaçção}]$; Conversão alimentar aparente (CAA) = (consumo total / ganho em peso); taxa de retençção proteica (TRP; %) = $[100 \times (\text{proteína corporal final} - \text{proteína corporal inicial}) / \text{consumo em proteína (matéria seca)}]$; Sobrevivência (S; %) = $(\text{número inicial de peixes} \times 100 / \text{número final de peixes})$; Fator de condiçção alométrico (K') = (W/L_t^b) onde W = peso do peixe, L_t = comprimento do peixe e $b = 1,96$, conforme apontado por Nuñez e Zaniboni-Filho (2009) para *S. scriptum*.

2.4. Coleta de gônadas

Após a biometria mensal e com base no peso médio registrado em cada unidade experimental seis animais (dois peixes de cada unidade experimental do sistema *indoor*; seis peixes do tanque-rede no sistema *outdoor*), foram selecionados e eutanasiados por overdose de eugenol para retirada das gônadas.

Uma vez registrado o peso e o comprimento total dos animais uma incisão ventral foi realizada para facilitar a exposiçção das gônadas e possibilitar seu registro fotográfico, ao mesmo tempo em que era realizada uma avaliaçção macroscópica de aspectos anatômicos, coloraçção, irrigaçção sanguínea e liberaçção ou não de gametas, para classificar os animais em uma das fases do ciclo reprodutivo - imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma, regressão ou regeneraçção -, propostas por Brown-Peterson et al. (2011). Posteriormente, as gônadas foram pesadas em balança digital para o cálculo do índice gonadossomático (IGS) = $(\text{peso da gônada} / \text{peso total do peixe}) \times 100$.

Após a pesagem, as gônadas foram fixadas em solução de formalina tamponada 4,0 % por 24 h e, posteriormente foram transferidas para álcool etílico 70%, para conservação até o início do preparo das lâminas histológicas.

A coleta de gônadas nas condições de criação *indoor* foi estendida até fevereiro 2016, englobando assim mais de um ciclo reprodutivo.

2.5. Análise histológica

As gônadas preservadas em álcool etílico 70% foram separadas em três seções, anterior, média e posterior, com o intuito de avaliar se as espermatogônias se desenvolveram igualmente ao longo de toda a gônada. O processamento histológico seguiu as etapas de desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em série de xilóis, inclusão em parafina, corte longitudinal em micrótomo de Minnot (4µm), coloração com hematoxilina-eosina e montagem final das lâminas utilizando o meio Permount.

Os estágios de desenvolvimento do epitélio germinativo foram identificados em microscópio de luz (Leica ICC50HD), e classificados dentro das fases do ciclo reprodutivo proposta por Brown-Peterson et al. (2011).

2.6. Modelo de crescimento

O modelo proposto por Ohnishi et al. (2012), que é uma versão estendida do modelo de crescimento de von Bertalanffy, foi utilizado para descrever o crescimento dos juvenis de *S. scriptum*:

$$L(a)=L_{\infty}\{1-\exp[-k((1-\nu)(a-t_0) - (\nu/\lambda) \{ \ln(1+\exp(-\lambda(a-t_m))) - \ln(1+\exp(-\lambda(t_0-t_m))) \})]\}$$

para o qual o $L(a)$ = comprimento na idade a ; L_{∞} = comprimento assintótico (valor máximo atingido por um peixe em determinado ambiente de criação); K = parâmetro de curvatura (rapidez com que um peixe atinge o L_{∞} , que varia de 0 a 1); ν = limite superior da taxa de energia destinada para reprodução (esforço reprodutivo); T_0 = parâmetro de condição inicial (idade teórica inicial); λ = rapidez de maturidade (rapidez com que um peixe atinge a maturidade); T_m = idade da primeira maturação (tempo em que o peixe atinge a primeira maturação sexual).

Os parâmetros da curva de crescimento foram estimados a partir do comprimento total registrado para os machos amostrados em cada

uma das coletas de gônadas. Uma análise de regressão foi aplicada para estimar os valores iniciais dos parâmetros do modelo com o algoritmo de Gauss-Newton, utilizando-se o procedimento não linear (Proc NLIN) do SAS (Windows, versão 9.0). Os parâmetros da curva de crescimento foram preliminarmente obtidos mediante o processamento dos dados de comprimento total com os gráficos de Gulland e Holt e de von Bertalanffy (Sparre e Venema, 1997) para definição do L_{∞} , K e T_0 . O parâmetro T_m foi definido mediante a análise histológica das gônadas; o parâmetro ν foi definido utilizando-se a relação entre o parâmetro K e o esforço reprodutivo em peixes, proposto por Charnov (2008). O parâmetro λ foi estimado com base nos valores apresentados por Ohnishi et al. (2012), utilizando o valor com melhor ajuste aos dados de comprimento observado nos exemplares de *S. scriptum*.

O modelo de crescimento foi avaliado a partir do coeficiente de determinação (R^2), do número de iterações e do intervalo de confiança dos parâmetros. Como os valores de comprimento foram obtidos a partir de animais mensurados uma única vez, não foi necessário testar a hipótese de autocorrelação dos resíduos.

2.7. Composição centesimal

O aumento do tamanho corporal dos peixes ao longo do experimento permitiu que o número de indivíduos utilizados por amostra para determinar a composição centesimal dos peixes (sem gônadas) fosse reduzido. Desse modo, aos quatro meses de idade, seis juvenis foram necessários para compor cada uma das três amostras coletadas. Durante o décimo mês de experimentação as amostras foram compostas por dois peixes no sistema *indoor* e quatro peixes no sistema *outdoor*. Para o vigésimo mês em ambos os sistemas de criação as amostras foram constituídas a partir de dois peixes.

Após o abate e a coleta de gônadas, os peixes foram congelados (-21 °C) até que as análises de teor de umidade (secagem até peso constante em estufa a 105 °C), extrato etéreo (método de Soxhlet), proteína bruta (método de Kjeldahl) e matéria mineral (incineração a 550°C) fossem conduzidas, utilizando-se as normas da Associação Oficial de Químicos Analistas (AOAC, 1990).

3. RESULTADOS

A qualidade da água no sistema *indoor* apresentou uma menor dispersão dentro das variáveis analisadas, com especial destaque para a

estabilidade observada durante 621 dias no oxigênio dissolvido, a temperatura e o pH. Por outro lado estas variáveis no sistema *outdoor* apresentaram uma maior variação, como resultado das condições meteorológicas presentes no local de estudo (Tabela 1). Durante o período experimental no município de Caçador/SC a temperatura média do ar diária foi de $16,6 \pm 2,85^{\circ}\text{C}$ e o índice pluviométrico acumulado mensal foi de $188,0 \pm 108,4$ mm, de acordo com o CIRAM (Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina).

Os peixes do sistema *indoor* apresentaram crescimento constante ao longo do período experimental, porém as variáveis de desempenho zootécnico apresentaram sua máxima expressão durante os primeiros 10 meses de criação (Tabela 2). Após este período o desempenho dos animais se manteve crescente, no entanto com menor intensidade. Neste sentido, o consumo de ração permaneceu em constante aumento embora o aproveitamento dos nutrientes tenha apresentado menor eficiência durante o último período de criação. Com relação ao crescimento observado no grupo *outdoor* os índices de crescimento durante os primeiros 10 meses de criação apresentaram sua menor expressão e logo após este período as variáveis de desempenho zootécnico apresentaram resultados mais relevantes.

No grupo *indoor* o índice de sobrevivência foi elevado (>95%) enquanto no grupo *outdoor* ela foi menor que 90%.

O modelo de crescimento de Ohnishi et al (2012), proposto para cada um dos sistemas de criação apresentou excelente ajuste ao crescimento registrado para *S. scriptum* durante os 621 dias de avaliação (Tabela 3), com um coeficiente de determinação superior a 0,95 e uma probabilidade significativa ($P < 0,001$). Os parâmetros do modelo de crescimento estimados para os peixes mantidos nas condições de criação *indoor* indicaram que os machos alcançaram rapidamente o comprimento assintótico e a maturidade sexual nestas condições de criação. Por outro lado, para os animais mantidos no grupo *outdoor* o valor estimado para K foi muito próximo de zero e o valor negativo para o parâmetro v , sugerem que neste sistema de criação os machos precisam de mais tempo para atingir o comprimento assintótico e a sua primeira maturação sexual (Tabela 3 e Figura 1).

A convergência entre os valores observados do comprimento total e os valores estimados para esta variável foi alcançada com um moderado número de iterações (<60) nos dois sistemas. Alguns parâmetros do modelo foram subestimados, como observado para a idade de maturação (T_m) que foi estimada em 7,76 meses para os peixes

na condição de criação *indoor* e em 13,13 meses para os animais mantidos na condição *outdoor*, o que contrastou com a idade de primeira maturação registrada na coleta mensal de gônadas. Da mesma forma, o parâmetro de condição inicial (T_0) nos juvenis de *S. scriptum* mantidos na condição *indoor* foi superestimado (1,01 meses de idade), sendo que para os peixes que do sistema *outdoor* este parâmetro foi subestimado, tendo sido encontrado um valor sem interpretação biológica (-110,60 meses de idade).

A análise corporal de *S. scriptum* permitiu estabelecer uma relação diretamente proporcional entre a proteína corporal dos animais e o tempo de criação nos sistemas *indoor* e *outdoor*, uma vez que os peixes, quando estocados, apresentaram índice de proteína corporal em torno de 13% e finalizaram o período experimental com valores próximos a 16%. Por outro lado, a relação entre o extrato etéreo (E.E) e o tempo de criação foi representada por modelos diferentes para animais dos diferentes sistemas de criação (Tabela 4).

Tabela 1. Qualidade da água (média \pm desvio-padrão) durante a criação de *Steindachneridion scriptum* em sistema *indoor* e *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.

Variáveis	<i>Outdoor</i>	<i>Indoor</i>
Temperatura (°C)	18,88 \pm 3,69	26,74 \pm 0,51
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,23 \pm 2,76	6,01 \pm 0,51
Condutividade (mS)	0,037 \pm 0,00	4,89 \pm 1,82
Salinidade (g/L)	0,02 \pm 0,01	2,10 \pm 0,46
pH	6,71 \pm 1,44	7,23 \pm 0,36
Amônia total (mg/L)	0,24 \pm 0,22	0,15 \pm 0,19
Nitrito (mg/L)	0,12 \pm 0,10	0,04 \pm 0,14
Alcalinidade (mg/L de CaCO ₃)	27,03 \pm 8,65	39,41 \pm 11,76
Dureza (mg/L de CaCO ₃)	42,47 \pm 17,69	108,98 \pm 25,21
Transparência (cm)	43,64 \pm 15,82	-

Tabela 2. Desempenho zootécnico de *Steindachmeridion scriptum* em sistema de criação *indoor* e *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.

	Tempo (meses)	<i>Indoor</i> ¹	<i>Outdoor</i> ²
Peso (g)	0	21,12 ± 0,39	20,16 ± 0,58
	10	240,78 ± 6,36	29,84 ± 10,17
	20	436,78 ± 26,13	107,02 ± 32,30
GP (g)	0	-	-
	10	219,65 ± 5,99	9,68
	20	196,00 ± 20,74	77,18
Comprimento (cm)	0	12,42 ± 0,09	12,27 ± 0,94
	10	28,01 ± 0,27	14,66 ± 1,63
	20	35,09 ± 0,83	21,52 ± 2,10
GC (cm)	0	-	-
	10	15,59 ± 0,31	2,39
	20	7,08 ± 0,63	6,86
BT (Kg/m³)	0	0,74 ± 0,01	0,71
	10	8,27 ± 0,19	0,92
	20	13,76 ± 0,77	3,50
TCE (%)	0	--	-
	10	0,37 ± 0,00	0,06
	20	0,08 ± 0,01	0,17
CRD (g)	0	--	-
	10	1,60 ± 0,02	0,10
	20	2,44 ± 0,07	0,66
CAA	0	--	-
	10	1,76 ± 0,05	2,72
	20	3,96 ± 0,35	1,87
TRP (%)	0	--	-
	10	24,11 ± 0,06	16,79
	20	15,51 ± 0,94	26,79
K'	0	0,15 ± 0,01	0,15
	10	0,35 ± 0,01	0,15
	20	0,41 ± 0,02	0,26
S (%)	0	--	-
	10	100	86,96
	20	96 ± 4,00	82,56

¹= Valores médios ± (erro-padrão); ²= Valores médios ± (desvio-padrão); GP = ganho em peso; GC = ganho em comprimento; BT = biomassa total; TCE = taxa de crescimento específico; CDR = consumo diário de ração por peixe; CAA = conversão alimentar aparente; TRP = taxa de retenção proteica; K' = fator de condição alométrico (b=1,96); S = sobrevivência.

Tabela 3. Parâmetros do modelo de crescimento de Ohnishi estimados a partir do comprimento total (cm) de machos de *Steindachneridion scriptum* criados entre março de 2014 e novembro de 2015 em sistema *indoor* e *outdoor*.

Parâmetros	Estimação	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%		Iterações	R ²	p
			Límite inferior	Límite superior			
			<i>Indoor</i>				
L_{∞}	36,95	1,36	34,05	39,85	33	0,99	<0,001
K	0,14	0,02	0,08	0,19			
ν	0,25	0,25	-0,29	0,79			
T_0	1,01	0,58	-0,22	2,24			
λ	0,96	2,55	-4,48	6,39			
T_m	7,76	2,50	2,43	13,09			
<i>Outdoor</i>							
L_{∞}	20,81	0,79	19,07	22,55	57	0,97	<0,001
K	0,01	0,16	-0,03	0,04			
ν	-34,17	75,60	-200,60	132,20			
T_0	-110,60	219,70	-594,30	373,00			
λ	1,27	1,66	-2,39	4,92			
T_m	13,13	1,49	9,84	16,42			

L_{∞} = comprimento assintótico; K = parâmetro de curvatura; ν = limite superior da taxa de energia destinada para reprodução; T_0 = parâmetro de condição inicial; λ = velocidade de maturidade; T_m = idade de maturação; R^2 = coeficiente de determinação; P = probabilidade ($\alpha = 0,05$).

Figura 1. Comprimento total observado e ajuste do modelo de crescimento de Ohnishi para machos de *Steindachneridion scriptum* criados a partir dos primeiros quatro meses de vida em duas condições de criação entre março de 2014 e novembro de 2015.

A) Sistema *indoor*: $L(a) = 36,95 \{1 - e^{[-0,14((0,75)(a-1,01)) - 0,26(\ln(1+e^{(-0,96(a-7,76))) - \ln(1+e^{6,481}))]}]\}$; $R^2=0,97$; $P<0,001$.

B) Sistema *outdoor*: $L(a) = 20,81 \{1 - e^{[-0,01((35,2)(a+111)) + 26,93(\ln(1+e^{(-1,27(a-13,13))) - \ln(1+e^{157,6451}))]}]\}$; $R^2=0,97$; $P<0,001$.

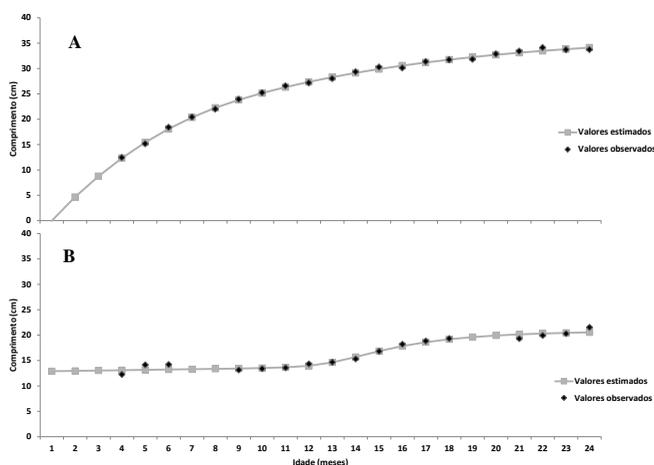


Tabela 4. Composição centesimal corpórea de machos (sem gônadas) de *Steindachneridion scriptum* (média \pm erro padrão) em sistema *indoor* e *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.

	Fração	Tempo (meses)			Modelo	R ²	P
		0	10	20			
<i>Indoor</i>	Umidade (%)	74,98 \pm 0,29	68,70 \pm 0,98	65,44 \pm 1,39	$y = -0,477x + 74,476$	0,86	<0,001
	Proteína (%)	13,25 \pm 0,23	15,29 \pm 0,38	16,85 \pm 0,74	$y = 0,1802x + 13,328$	0,81	<0,001
	E.Etereo (%)	5,92 \pm 0,06	9,60 \pm 0,60	13,35 \pm 0,47	$y = 0,3713x + 5,91$	0,96	<0,001
	Cinzas (%)	3,08 \pm 0,05	3,86 \pm 0,54	1,81 \pm 0,60	$y = -0,0141x^2 + 0,219x + 3,0867$	0,62	<0,05
<i>Outdoor</i>	Umidade (%)	74,98 \pm 0,29	74,28 \pm 0,15	68,14 \pm 0,19	$y = -0,3418x + 75,885$	0,81	<0,001
	Proteína (%)	13,25 \pm 0,23	13,99 \pm 0,02	16,68 \pm 0,26	$y = 0,1715x + 12,923$	0,87	<0,001
	E.Etereo (%)	5,92 \pm 0,06	4,65 \pm 0,02	11,08 \pm 0,51	$y = 0,0385x^2 - 0,512x + 5,92$	0,98	<0,001
	Cinzas (%)	3,08 \pm 0,05	3,46 \pm 0,01	1,32 \pm 0,13	$y = -0,0126x^2 + 0,163x + 3,0867$	0,98	<0,001

Modelo = equações de regressão linear e polinomial ajustadas aos valores de composição corporal ao longo do período de criação; R² = coeficiente de determinação; P = probabilidade.

Os testículos de *S. scriptum* são estruturas filiformes, sólidas e alongadas, localizadas na cavidade abdominal entre a bexiga natatória e o sistema digestório, que perdem o formato duplo ao se fundir na região caudal para formar o ducto espermático, que se abre para o exterior no poro urogenital. Conforme os peixes se aproximaram da maturação gonadal (Figura 2), as gônadas se tornaram maiores, mais turgidas e volumosas, apresentando formação de dobras, sendo que a coloração passa de translúcida, nos peixes imaturos, para branca leitosa nos animais maduros. Posteriormente, a gônada começa a perder volume, e adquire uma coloração rosácea, que está relacionada com o aumento da irrigação sanguínea no órgão para facilitar a reabsorção dos nutrientes, até o ponto em que seu formato volta a ser filiforme, assemelhando-se macroscopicamente a um animal imaturo.

Todas as fases do ciclo reprodutivo (imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma, regressão e regeneração) propostas por Brown-Peterson et al. (2011), foram observadas apenas nos machos submetidos à condição de criação *indoor*. No entanto, as mudanças estruturais ao nível microscópico que foram acompanhadas pela proliferação e modificação das células do epitélio germinativo (Tabela 5) não apresentaram diferenças entre os indivíduos submetidos às diferentes condições de criação.

A fase imatura foi caracterizada pela presença abundante de espermatogônias ao longo da gônada (Figura 3A). Alguns animais desta fase apresentaram espermatozoides entre as espermatogônias sem indícios de uma prévia formação dos espermatocistos, além disso, o lúmen dos túbulos seminíferos ainda não se encontrava perceptível (Figura 4).

Figura 2. Fases do ciclo reprodutivo de machos de *Steindachneridion scriptum* com base nas características morfológicas macroscópicas dos testículos (*). A= imaturo. B= desenvolvimento. C= apto a liberar esperma. D= regressão. E= regeneração.



Tabela 5. Características macroscópicas e microscópicas das diferentes fases do ciclo reprodutivo de *Steindachneridion scriptum* criados em sistema *indoor* e *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.

Fase	Características	
	Macroscópicas	Microscópicas
Imaturo	Testículo pequeno e translúcido de aspecto filiforme.	Lúmen dos túbulos seminíferos imperceptíveis e abundância de espermatogônias ao longo da gônada.
Desenvolvimento	Testículo em crescimento de coloração esbranquiçada e de fácil identificação.	Início da espermatogênese e formação dos espermatocistos, lúmen dos túbulos seminíferos torna-se visível. Presença de espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozoides ao interior dos cistos. Ao longo da gônada é possível observar que o epitélio germinativo se mantém contínuo.
Apto a liberar esperma	Testículo túrgido, volumoso e de coloração branca. Irrigação sanguínea evidente ao longo da gônada.	Epitélio germinativo descontínuo e massiva presença de espermatozoides livres no lúmen dos túbulos seminíferos. Número reduzido de Espermatogônias, espermatocistos e espermatídes.
Regressão	Testículo de menor tamanho, flácido, fortemente vascularizado e de coloração rosada.	Proliferação de espermatogônias e presença de espermatozoides residuais no lúmen dos túbulos seminíferos.
Regeneração	Testículo pequeno de coloração translúcida e revela-se uma irrigação sanguínea inferior.	O tamanho do lúmen dos túbulos seminíferos é discreto com ocasional presença de espermatozoides residuais. A proliferação de espermatogônias torna-se evidente ao longo da gônada.

(Adaptado de Brown-Peterson et al. 2011)

Figura 3. Fases do ciclo reprodutivo de machos de *Steindachneridion scriptum* com base nas características morfológicas microscópicas dos testículos (40x). A= imaturo. B= desenvolvimento. C= apto a liberar espermatozoides. D= regressão. E= regeneração. g = espermatozoides; c = espermatozóides; z = espermatócitos; lu = lúmen do túbulo seminífero; vs = vaso sanguíneo; EGC = epitélio germinativo contínuo; EGD = epitélio germinativo descontínuo.

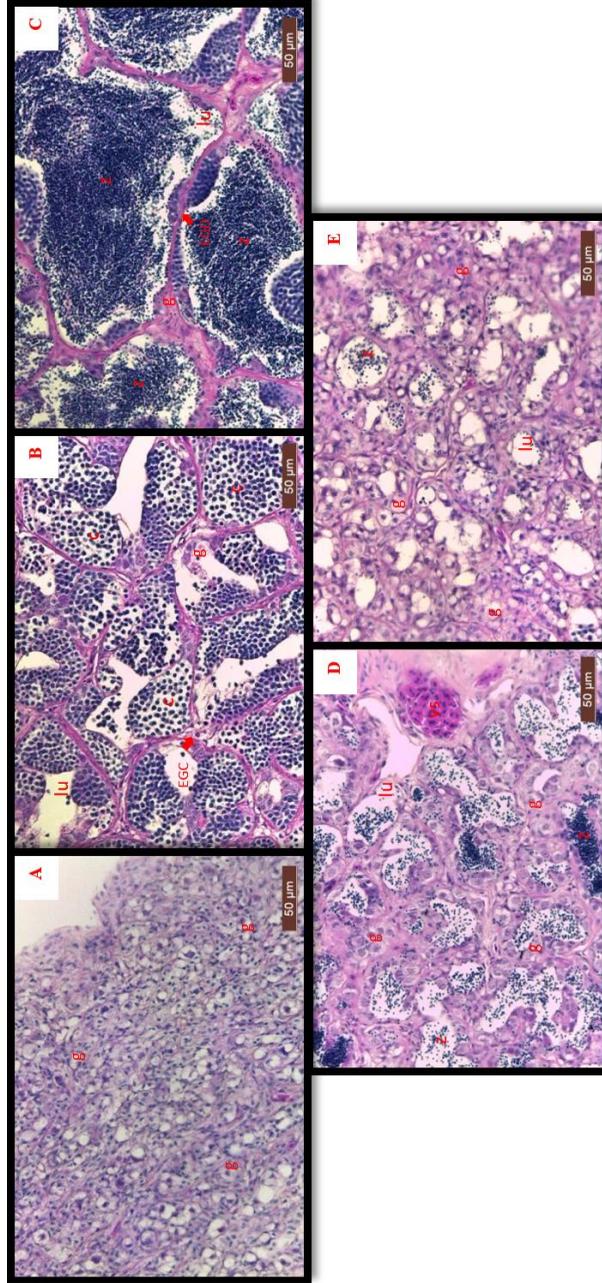


Figura 4. Características da gônada imatura de juvenis machos ($29,39 \pm 9,83$ g; $14,60 \pm 1,56$ cm) de *Steindachmeria scriptum*. A= tamanho médio dos juvenis. B= vista macroscópica da gônada. C= vista microscópica da gônada (10x). D= detalhe da gônada (40x). E= detalhe da gônada (100x). * = gônada; g = espermatogônia; z = espermatozoídes.



A fase de desenvolvimento gonadal foi marcada pelo início da espermatogênese e a formação dos espermatocistos em cujo interior abundam os espermatócitos e as espermátides, sendo visível pela primeira vez o lúmen dos túbulos seminíferos (Figura 3B).

Peixes submetidos à condição *indoor* apresentaram as características típicas de animais aptos a liberar sêmen (Figura 3C) pela primeira vez com 13 meses de idade, quando apresentavam $251,80 \pm 17,05$ g e $28,50 \pm 2,15$ cm. Na condição *outdoor* os animais atingiram a primeira maturação sexual com 22 meses de idade, com peso e comprimento total de $113,24 \pm 22,29$ g e $20,96 \pm 1,86$ cm, respectivamente.

O aumento da vascularização da gônada do *S. scriptum* e sua redução de tamanho marcaram o início da fase de regressão, ainda que alguns espermatozoides fossem observados no lúmen dos túbulos seminíferos (Figura 3D). Do mesmo modo, uma expressiva redução do tamanho da gônada, acompanhada por um evidente aumento do número de espermatogônias foi observada, indicando assim o início da fase de regeneração (Figura 3E). Entretanto, esta última fase não foi registrada nos peixes mantidos no sistema *outdoor*, dado que naquela condição a coleta de dados havia sido encerrada, uma vez que os peixes atingiram a fase de regressão gonadal.

Dentro do ciclo reprodutivo observado nos machos de *S. scriptum* mantidos no sistema *indoor*, a fase de desenvolvimento foi a mais longa, estando presente a partir do oitavo mês de vida e em quase todas as idades subsequentes (Figura 5).

Entre os peixes submetidos à condição *outdoor* a fase imatura foi a mais longa estando presente, no mínimo, até os primeiros 18 meses de vida (Figura 6). Destaca-se que, no sistema *indoor*, foram encontrados peixes liberando sêmen em praticamente todos os meses subsequentes à primeira maturação sexual, já no sistema *outdoor* peixes liberando esperma foram observados por apenas dois meses (Figura 5 e 6).

Foram observadas variações no índice gonadossomático de *S. scriptum* em ambos os sistemas de criação. Os peixes do sistema *indoor* apresentaram três picos com valores superiores a 0,40% nos meses de dezembro (2014 e 2015) e julho (2015), que correspondem às estações verão e inverno, respectivamente. Destaca-se que os picos (Figura 7) coincidiram com a maior frequência de peixes (>60%) classificados na fase de maturação gonadal.

Por outro lado, os peixes do sistema *outdoor* apresentaram apenas um pico (Figura 8) com valor superior a 0,40% no mês de setembro (2015), coincidindo com o início da primeira maturação gonadal de *S. scriptum* nesta condição de criação, sendo que durante esse mês foi registrada a maior frequência de peixes (>75%) na fase de maturação.

Figura 5. Fases do desenvolvimento gonadal de machos de *Steindachneridion scriptum* criados em sistema *indoor* entre março de 2014 e fevereiro de 2016.

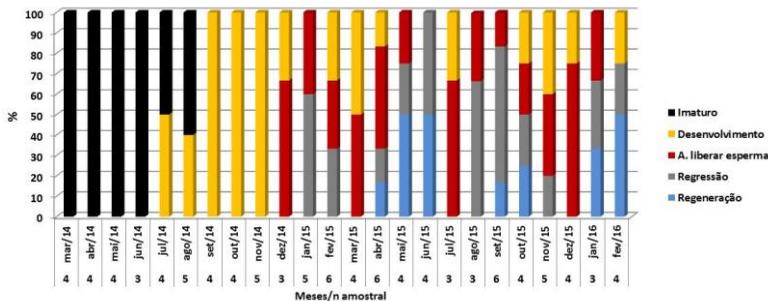


Figura 6. Fases do desenvolvimento gonadal de machos de *Steindachneridion scriptum* criados em sistema *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.

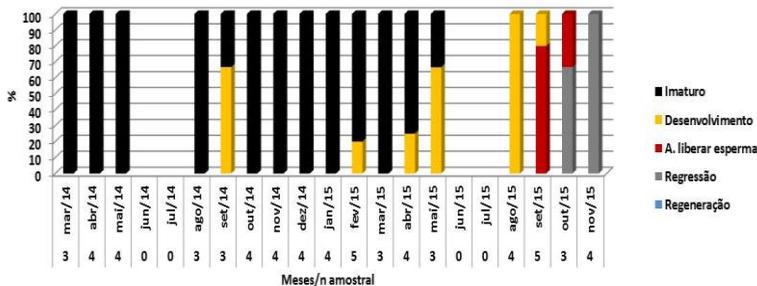


Figura 7. Índice gonadossomático (IGS) de machos de *Steindachneridion scriptum* criados em sistema *indoor* entre março de 2014 e fevereiro de 2016.

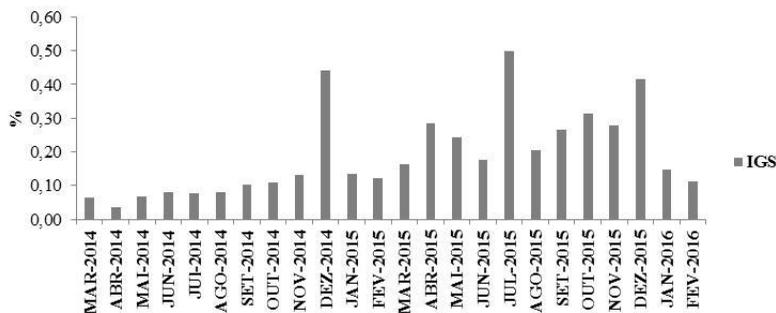
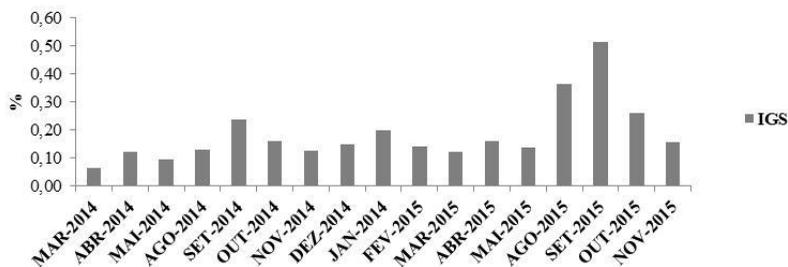


Figura 8. Índice gonadossomático (IGS) de machos de *Steindachneridion scriptum* criados em sistema *outdoor* entre março de 2014 e novembro de 2015.



4. DISCUSSÃO

Os parâmetros de qualidade da água em ambas as condições de criação permaneceram dentro dos valores habitualmente registrados na bacia do Alto rio Uruguai (Hermes-Silva et al., 2009, Ternus et al., 2011), habitat natural da espécie. Entretanto, a salinidade e a dureza registradas nas condições de criação *indoor* foram a exceção, visto que ao longo do experimento a manutenção da salinidade foi uma medida profilática (Altinok e Grizzle, 2001; Souza-Bastos e Freire, 2009; Magondou et al., 2011) adotada para evitar mortalidades em decorrência de patologias relacionadas ao *Ichthyophthirius multifiliis* e a infecções

bacterianas. Por outro lado, a dureza da água neste sistema se manteve estável e superior a 100 mg/L de CaCO₃ devido ao tamponamento artificial do sistema de filtração.

A menor variação nos parâmetros de qualidade da água observada no grupo *indoor* e uma marcante flutuação no grupo *outdoor* influenciou, consideravelmente, o desempenho dos animais. Como a maioria dos peixes teleósteos são organismos pecilotérmicos, esta condição estabelece uma forte dependência entre o metabolismo e a temperatura do meio ambiente, característica amplamente discutida por vários autores (Clarke e Johnston, 1999; Lermen et al., 2004).

O sistema *indoor* favoreceu o desenvolvimento de *S. scriptum*, devido ao fornecimento abundante de alimento e a reduzida variação nos parâmetros de qualidade da água. O crescimento dos animais mantidos neste sistema possivelmente atingiu o seu limite, uma vez que o volume de água disponível parecia ser insuficiente para a manutenção dos mais de 13 kg/m³ de biomassa total estocada em cada unidade experimental. Sugere-se esta hipótese porque o consumo de ração aumentou, acompanhando o maior tamanho dos peixes, mas a TCE encontrava-se reduzida a menos de 0,1% com uma CAA próxima de 4:1 e menor retenção de proteína. Esta dinâmica de restrição do crescimento também foi observada em *Clarias gariepinus* (Akinwale e Faturoti, 2007) e *R. quelen* (Fukushima et al., 2011), quando ultrapassada a densidade de estocagem que estas espécies podem suportar em sistemas de recirculação de água.

Embora a densidade de estocagem ideal para uma espécie dependa de fatores intrínsecos a ela e ao sistema de criação utilizado, o crescimento registrado para *S. scriptum* no sistema *outdoor* contrasta com o reportado por Zaniboni-Filho et al. (2010) para exemplares da mesma espécie criados em tanques-rede em densidade inicial de 4,0 kg/m³ (60 peixes/m³), que atingiram peso médio final de 500 g em tempo inferior a um ano de criação. A densidade de estocagem utilizada inicialmente em nosso estudo foi inferior a 800 g/m³ (35 peixes/m³) e este aspecto pode ter prejudicado o desempenho dos juvenis durante o primeiro ano de criação em tanque-rede. Algumas espécies como o *C. gariepinus* (Toko et al., 2007) e *Pangasius bocourti* (Jiwyam, 2011) apresentam seus índices de crescimento potencializados com o incremento na densidade de estocagem. Os autores destes trabalhos indicaram que parte deste fenômeno seria explicado pela formação de cardumes, consequência do aumento das densidades de estocagem, condição que modifica o comportamento dos animais e promove uma resposta mais rápida à presença do alimento no interior das unidades

experimentais. Cabe destacar que, durante a larvicultura e a manutenção dos juvenis utilizados neste trabalho, a formação de cardumes durante as horas de luz era evidente. Não obstante, uma vez iniciada a fase de experimentação, este comportamento não foi mais observado nas duas condições de criação.

Ricker (1979) afirmou que o crescimento de muitas espécies de peixes na natureza é influenciado pela variação nas estações do ano, sendo esta uma característica para as espécies não tropicais. Deste modo, a época em que os juvenis de *S. scriptum* foram estocados, o final do verão, é outra variável, além da densidade de estocagem, a ser considerada para a compreensão do desempenho dos animais mantidos no sistema *outdoor*. Desse modo, a redução da temperatura, que para o mês de maio de 2014 atingiu $15,77 \pm 0,99^\circ\text{C}$ influenciou o crescimento. Guderley (2004) abordou a complexa dinâmica de adaptação dos peixes teleósteos a baixas temperaturas, ressaltando o aumento de volume e de atividade enzimática das mitocôndrias presentes nas fibras musculares para incrementar a produção oxidativa de ATP, uma vez que em menores temperaturas, há menor disponibilidade e consumo de alimento.

Por outro lado, as possíveis lutas pelo estabelecimento de uma hierarquia no interior do tanque-rede no sistema *outdoor*, como consequência da densidade de estocagem baixa pode ter contribuído igualmente na redistribuição da energia ingerida no alimento. Esta hipótese ganha força com a redução em 1,27% do extrato etéreo na composição corporal dos exemplares de *S. scriptum* durante os primeiros dez meses. Claramente, o modelo ajustado para aquela condição sugere um consumo das reservas energéticas presentes nos peixes durante este período. Entretanto, apesar da pressão ambiental que a estação do inverno exerce sobre os peixes, houve um acréscimo na porcentagem de proteína indicando que não houve perda de massa corporal nos peixes ao mesmo tempo em que a sobrevivência se manteve elevada. Estes aspectos são atributos de destaque para a criação de espécies na região Sul do Brasil, como é o caso do *R. quelen*, espécie que durante as estações de outono e inverno apresenta crescimento corporal e boa sobrevivência quando criada em condições de aquicultura (Souza et al., 2005).

A composição corporal de *S. scriptum* no sistema *indoor* mostrou porcentagens crescentes de proteína e extrato etéreo, conforme aumentava o tamanho dos peixes ao longo do tempo de criação, tendência diferente da observada na porcentagem de umidade cujos valores apresentaram relação inversamente proporcional. Esta condição

foi relatada para diversas espécies, para as quais se observa maior quantidade de energia por unidade de biomassa em peixes de maior tamanho, em comparação a peixes de menor tamanho (Dumas et al., 2010). Cabe destacar que, em ambas as condições de criação o extrato etéreo registrado ao final do período experimental foi superior a 10%, indicando uma elevada deposição de gordura nos animais, muito similar aos 11,37% observados em juvenis da mesma espécie alimentados com uma dieta rica em lipídeos (Zaniboni-Filho et al., 2015). Parte deste excesso de gordura acumulada pode estar ligada a estratégia de alimentação utilizada no experimento (saciedade aparente).

A curva de crescimento proposta apresentou um alto grau de ajuste com os valores de comprimento total registrados, permitindo inferir os valores desta variável em juvenis e adultos de *S. scriptum* quando mantidos nas condições de criação do presente estudo. Em sua última biometria os animais apresentaram um comprimento padrão muito próximo dos valores assintóticos estimados pelo modelo de Ohnishi. Modelos de crescimento clássicos como o logístico, de von Bertalanffy e de Gompertz, quando aplicados para descrever o crescimento em condições de cativeiro de espécies como *Oreochromis niloticus* (Ansah e Frimpong, 2015) e *Colossoma macropomum* (Mello et al., 2015), apresentam esta mesma tendência nas biometrias finais, indicando que os peixes mantidos em condições de criação alcançam seu peso ou comprimento assintótico em menor período de tempo. Esta condição coincide com o postulado por Gamito (1998) que afirmou que o crescimento animal ou vegetal aproxima-se de um modelo sigmoidal quando as condições ambientais e o fornecimento de nutrientes são mantidos sem grandes flutuações.

A subestimação ou superestimação observada no parâmetro de condição inicial (T_0) para *S. scriptum* é uma característica relativamente frequente dentro do modelo de crescimento de von Bertalanffy quando aplicado a peixes mantidos em condições de aquicultura, motivo pelo qual Gamito (1998) considera que este modelo é pouco adequado para descrever o crescimento durante as primeiras fases da vida dos peixes. No presente estudo a estimativa inadequada de alguns dos parâmetros do modelo de crescimento, como registrado para os parâmetros T_0 e T_m , pode estar relacionada ao fato de que o modelo de crescimento de Ohnishi deriva do modelo de von Bertalanffy (Ohnishi et al., 2012), e à falta de dados sobre o comprimento durante os primeiros dias de vida de *S. scriptum*. Por outro lado, o modelo de crescimento, ao estimar um valor negativo para o limite superior da taxa de energia destinada para reprodução (v), marca um indício para entender por que os animais

mantidos na condição *outdoor* atingiram a primeira maturação sexual aos 22 meses de idade. Segundo Wootton (1994), a energia consumida por um peixe visa atender basicamente as demandas de manutenção, crescimento e reprodução, visto que a energia ingerida pelo animal está balanceada pela energia utilizada na manutenção e pela energia estocada como novos tecidos. Neste sentido, podemos entender que, durante os primeiros dez meses de criação, a energia ingerida por *S. scriptum* foi destinada principalmente para as demandas de manutenção, deixando em segundo plano o crescimento corporal e gonadal.

O parâmetro de curvatura ($K = 0,14$) estimado para descrever o crescimento dos animais do sistema *indoor* sugere que o comprimento assintótico foi alcançado rapidamente, e que os índices de crescimento nesta condição estariam maximizados. Este fato pode ter contribuído para que a primeira maturação sexual dos animais mantidos nestas condições fosse alcançada aos 13 meses de idade, coincidindo assim com as evidências sobre a relação positiva entre a primeira maturação sexual precoce e as maiores taxas de crescimento observadas em algumas espécies de peixes mantidos em cativeiro (Taranger et al., 2010).

As características macroscópicas das gônadas do *S. scriptum* foram similares às observadas em *Steindachneridion melanoderdatum* (Tessaro, 2015), cujo formato tubular não apresenta as projeções digitiformes que são frequentemente observadas em diversas espécies de bagres. O formato tubular facilita o processo de seleção de reprodutores maduros para processos de indução hormonal, bem como para a coleta posterior do sêmen, uma vez que o formato digitiforme e/ou a presença de uma região meramente secretória na região caudal da gônada dificultam ou impossibilitam a coleta do sêmen mediante pressão abdominal em espécies como *Leiarius marmoratus* (Mira López et al., 2010), *Sorubim lima* (Shibatta et al., 2011) e *Pimelodus maculatus* (Sato et al., 1999).

Todas as etapas da espermatogênese observadas em *S. scriptum* mantidos nos sistemas *indoor* e *outdoor* coincidiram com os eventos de a proliferação de espermatogônias até a formação de espermatozoides relatados por Schulz et al. (2010). Por outro lado, destaca-se que os processos de multiplicação e diferenciação celular no interior dos espermatocistos ocorreram ao longo da gônada sem apresentar qualquer tipo de restrição ao desenvolvimento celular. Em alguns animais imaturos foi registrada a presença de espermatozoides nas regiões média e cranial de gônadas, mesmo sem evidência da formação prévia de espermatocistos. Esta condição que foi igualmente registrada em juvenis

de *Clarias gariepinus* (Schulz et al., 1997) e *S. melanodermatum* (Tessaro, 2015), para os quais os autores atribuem a presença destas células a uma primeira onda espermatogênica, dado que estas espécies atingem a primeira maturação sexual em condições de aquicultura com mais de 11 meses de idade.

A baixa frequência de espermatozoides na fase imatura de *S. scriptum* pode levar à classificação errada de animais em fase de regeneração gonadal. Por tal motivo, maiores cuidados devem ser tomados durante a classificação de animais cuja idade é desconhecida. Uma identificação precisa das diferentes fases do ciclo reprodutivo em condições de criação permite explorar ao máximo o período reprodutivo de uma espécie mantida em confinamento.

O IGS superior a 0,40% em machos de *S. scriptum* indicou a presença de exemplares aptos a liberar sêmen mediante leve pressão abdominal. Valores de IGS inferiores a 1,0% são utilizados para identificar animais sexualmente maduros em bagres, como *L. marmoratus* (Mira López et al., 2010), *S. melanodermatum* (Tessaro, 2015) e *P. maculatus* (Arantes et al., 2013). O registro precoce de exemplares com este IGS no sistema *indoor* e o início da primeira maturação sexual no mês de setembro dos peixes mantidos no sistema *outdoor* coincidem com as observações realizadas por Zaniboni-Filho et al. (2010) sobre a forte influência da temperatura da água sobre a antecipação do restrito período reprodutivo desta espécie que, normalmente, ocorre entre os meses de setembro e novembro. Isto ocorre de tal forma que os machos de *S. scriptum* mantidos em condições de laboratório apresentam seu período reprodutivo alterado, atingindo a primeira maturação sexual no mês de dezembro com peso em torno das 250 g, diferindo, portanto, do peso de 820 g, estimado por Zaniboni-Filho et al. (2010) como o peso de primeira maturação de machos de *S. scriptum* capturados no ambiente natural.

O fator de condição alométrico observado nos machos de *S. scriptum* antes de atingir a correspondente idade de primeira maturação sexual permitiu estabelecer que animais que apresentaram valores de K' inferiores a 0,15 não atingiram a maturação sexual. Ressalta-se, no entanto, que o fator de condição é uma ferramenta útil para selecionar fêmeas maduras em algumas espécies reoflicas, mas para machos a variação deste parâmetro ao longo do ciclo reprodutivo é menos pronunciada, o que torna pouco precisa a seleção de machos maduros com base neste critério (Ribeiro et al., 2007).

5. CONCLUSÃO

Os machos de *Steindachneridion scriptum* mantidos nas condições de criação *indoor* apresentam precocemente sua primeira maturação gonadal aos 13 meses de idade com comprimento médio de $28,50 \pm 2,15$ cm. Esta condição foi atingida pelos machos mantidos no sistema *outdoor* aos 22 meses de idade, com comprimento médio de $20,96 \pm 1,86$ cm, sendo possível observar a influência das condições ambientais de criação sobre o crescimento e a primeira maturação sexual desta espécie.

6. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida mediante o Programa Estudante-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) ao primeiro autor (Processo nº 15052125) e à equipe de trabalho do LAPAD pela assistência durante a execução do trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho, A.A., Zaniboni-Filho, E., Shibatta, O., Garavello, J., 2008. *Steindachneridion scripta*, In: Machado, A.B.M.; Drummon, G. M.; Paglia, A. P. (Eds.), Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. MMA, Brasília, DF, pp. 239-240.
- Akinwole, A.O., Faturoti, E.O., 2007. Biological performance of African Catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in recirculating system in Ibadan. *Aquacultural Engineering*. 36, 18-23.
- Altinok, I., Grizzle, J.M., 2001. Effects of low salinities on *Flavobacterium columnare* infection of euryhaline and freshwater stenohaline fish. *Journal of Fish Diseases*. 24, 361-367.
- Amano, M., Kitamura, S., Ikuta, K., Suzuki, Y., Aida, K., 1997. Activation of salmon GnRH mRNA expression prior to differentiation of precocious males in masu salmon. *General and Comparative Endocrinology*. 105, 365-371.

- Ansah, Y.B., Frimpong, E.A., 2015. Using Model-Based Inference to Select a Predictive Growth Curve for Farmed Tilapia. *North American Journal of Aquaculture*. 77, 281-288.
- AOAC, 1990. In: Horowitz, W. (Ed.), *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, pp. 881-882.
- Arantes, F.P., Borçato, F.L., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2013. Reproduction and embryogenesis of the mandi-amarelo catfish, *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae), in captivity. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 42, 30-39.
- Brown-Peterson, N.J., Wyanski, D.M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B.J., Lowerre-Barbieri, S.K., 2011. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Marine and Coastal Fisheries*. 3, 52-70.
- Charnov, E.L., 2008. Fish growth: Bertalanffy k is proportional to reproductive effort. *Environmental Biology of Fishes*. 83, 185-187.
- Clarke, A., Johnston, N.M., 1999. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Animal Ecology*. 68, 893-905.
- Dumas, A., France, J., Bureau, D., 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? *Aquaculture Research*. 41, 161-181.
- Fukushima, H., Jimenez, J.E., Weingartner, M., Zaniboni-Filho, E., 2011. Effect of Stock Density and Ploidy in Jundia, *Rhamdia quelen*, Larvae Performance. *Journal of Applied Aquaculture*. 23, 147-156.
- Gamito, S., 1998. Growth models and their use in ecological modelling: an application to a fish population. *Ecological Modelling*. 113, 83-94.
- Guderley, H., 2004. Metabolic responses to low temperature in fish muscle. *Biological Reviews*. 79, 409-427.

- Hermes-Silva, S., Reynalte-Tataje, D., Zaniboni-Filho, E., 2009. Spatial and temporal distribution of ichthyoplankton in the upper Uruguay river, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52, 933-944.
- Huang, Y., Rousseau, K., Le Belle, N., Vidal, B., Burzawa-Gerard, E., Marchelidon, J., Dufour, S., 1998. Insulin-like growth factor-I stimulates gonadotrophin production from eel pituitary cells: a possible metabolic signal for induction of puberty. *Journal of Endocrinology*. 159, 43-52.
- Jiwyam, W., 2011. The effect of stocking density on yield, growth, and survival of Asian river catfish (*Pangasius bocourti* Sauvage, 1880) cultured in cages. *Aquaculture International*. 19, 987-997.
- Karkach, A., 2006. Trajectories and models of individual growth. *Demographic Research*. 15, 347-400.
- Lermen, C.L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V.P., Gioda, C.R., Schetinger, M.R.C., Baldisserotto, B., Moraes, G., Morsch, V.M., 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. 239, 497-507.
- Magundu, E.W., Rasowo, J., Oyoo-Okoth, E., Charo-Karisa, H., 2011. Evaluation of sodium chloride (NaCl) for potential prophylactic treatment and its short-term toxicity to African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) yolk-sac and swim-up fry. *Aquaculture*. 319, 307-310.
- Mello, F.d., Oliveira, C.A.L., Ribeiro, R.P., Resende, E.K., Povh, J.A., Fornari, D.C., Barreto, R.V., Mcmanus, C., Streit JR, D., 2015. Growth curve by Gompertz nonlinear regression model in female and males in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 87, 2309-2315.
- Mira López, T.M., Medina-Robles, V.M., Cruz-Casallas, P.E., 2010. Morfología Testicular del Yaque *Leiarius marmoratus* (Pisces: Siluridae) en Estadio de Madurez Reproductiva. *International Journal of Morphology*. 28, 421-426.

- MMA. Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameacadas-de-extincao/fauna-ameacada> (accessed 12 may 2017).
- Norberg, B., Weltzien, F.-A., Karlsen, Ø., Holm, J.C., 2001. Effects of photoperiod on sexual maturation and somatic growth in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 129, 357-365.
- Nuñez, A.P.O., Zaniboni-Filho, E., 2009. Length–weight relationships of fish species caught in the Upper Uruguay River, Brazil. Journal of Applied Ichthyology. 25, 362-364.
- Ohnishi, S., Yamakawa, T., Okamura, H., Akamine, T., 2012. A note on the von Bertalanffy growth function concerning the allocation of surplus energy to reproduction. Fishery Bulletin. 110, 223-229.
- Okuzawa, K., 2002. Puberty in teleosts. Fish physiology and biochemistry. 26, 31-41.
- Reinecke, M., 2010. Insulin-like Growth Factors and Fish Reproduction. Biology of reproduction. 82, 656-661.
- Ribeiro, V.M.A., Santos, G.B., Bazzoli, N., 2007. Reproductive biology of *Steindachnerina insculpta* (Fernandez-Yépez) (Teleostei, Curimatidae) in Furnas reservoir, Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia. 24, 71-76.
- Ricker, W.E., 1979. 11 - Growth Rates and Models. in: W.S. Hoar, D.J.R., Brett, J.R. (Eds.), Fish Physiology. Academic Press, pp. 677-743.
- Sato, Y., Fenerich-Verani, N., Verani, J.R., Godinho, H.P., Sampaio, E.V., 1999. Reproductive traits of the yellow-mandi catfish *Pimelodus maculatus* Lacépède (Osteichthyes, Siluriformes) in captive breeding. Revista Brasileira de Zoologia. 16, 981-986.

- Schulz, R.W., de França, L.R., Lareyre, J.-J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R.H., Miura, T., 2010. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165, 390-411.
- Schulz, R.W., Zandbergen, M.A., Peute, J., Bogerd, J., van Dijk, W., Goos, H., 1997. Pituitary gonadotrophs are strongly activated at the beginning of spermatogenesis in African catfish, *Clarias gariepinus*. *Biology of reproduction*. 57, 139-147.
- Shibatta, O.A., Novelli, J.L., Dias, J.H.P., de Castro Britto, S.G., Caetano Filho, M., 2011. Reproduction of duckbill catfish *Sorubim lima* in captivity (Siluriformes, Pimelodidae) by means of hormonal induction. *Semina: Ciências Agrárias*. 32, 363-372.
- Souza, L., Pouey, J., Camargo, S., 2005. Crescimento e sobrevivência do catfish de canal (*Ictalurus punctatus*) e jundiá (*Rhamdia* sp) no outono-inverno do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*. 35, 891-896.
- Souza-Bastos, L.R., Freire, C.A., 2009. The handling of salt by the neotropical cultured freshwater catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. 289, 167-174.
- Sparre, P., Venema, S.C., 1997. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales Parte 1: Manual, Roma.
- Taranger, G.L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F.-A., Dufour, S., Karlsen, Ø., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T., 2010. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165, 483-515.
- Ternus, R.Z., Souza-Franco, G.M.d., Anselmini, M.E.K., Mocellin, D.J.C., Dal Magro, J., 2011. Influence of urbanisation on water quality in the basin of the upper Uruguay River in western Santa Catarina, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 23, 189-199.
- Tessaro, L., 2015. Biologia reprodutiva de surubins do Iguaçu, *Steindachneridion melanodermatum*, em condições de cativeiro. Thesis (Doutorado em aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, p. 68.

- Toko, I., Fiogbe, E.D., Koukpode, B., Kestemont, P., 2007. Rearing of African catfish (*Clarias gariepinus*) and vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*) in traditional fish ponds (whedos): Effect of stocking density on growth, production and body composition. *Aquaculture*. 262, 65-72.
- Trippel, E.A., Kjesbu, O.S., Solemdal, P., 1997. Effects of adult age and size structure on reproductive output in marine fishes, in: Chambers, R.C., Trippel, E.A. (Eds.), *Early Life History and Recruitment in Fish Populations*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 31-62.
- von Bertalanffy, L., 1938. A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws. II). *Human biology*. 10, 181-213.
- Wootton, R.J., 1994. Energy allocation in the threespine stickleback. In: Bell, M.A, Foster, S.A. (Eds.), *The Evolutionary Biology of the Threespine Stickleback*. Editora Oxford University Press, Oxford, pp. 114-143.
- Zaniboni-Filho, E., Hermes-Silva, S., Weingartner, M., Jimenez, J.E., Borba, M.R., Fracalossi, D.M., 2015. Bioimpedance as a tool for evaluating the body composition of suruvi (*Steindachneridion scriptum*). *Brazilian Journal of Biology*. 75, 239-244.
- Zaniboni-Filho, E., Reynalte-Tataje, D., Hermes-Silva, S., 2010. Cultivo de bagres do gênero *Steindachneridion*, In: Baldisserotto, B., Gomes, L.C. (Orgs.), *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Editoraufsm, Santa Maria, pp. 363-382.

Capítulo 2: USO DE ANÁLOGOS DE GnRH COMO PROMOTORES DA ESPERMIAÇÃO EM *Steindachneridion scriptum*

Jhon Edison Jimenez^{a*}, Alex Pires de Oliveira Nuñez^a

^aLaboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Francisco Thomaz dos Santos, 3532, Florianópolis, Santa Catarina, CEP 88066-260, Brasil.

*Autor para correspondência. Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia SC Francisco Thomaz dos Santos, 3532, Florianópolis, Santa Catarina, CEP 88066-260, Brasil. Telefone: +55 48 3721 6300.

Endereço eletrônico: jejimenezro@gmail.com (J.E. Jimenez), alex.nuner@ufsc.br (A.P.O. Nuñez).

RESUMO

Este trabalho avaliou o uso de análogos sintéticos do hormônio-liberador de gonadotropinas (GnRH-a) como uma alternativa economicamente viável ao tradicional uso do extrato pituitário de carpa (EPC), que tem sido o único tratamento hormonal utilizado para promover a espermiacção de *Steindachneridion scriptum* em condições de cativeiro. Com este propósito, foram utilizados machos adultos ($n=48$) com peso médio de $415,40 \pm 9,40$ g, que foram distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso em quatro tratamentos utilizando doses totais correspondentes a 4,4 mg/kg de peso vivo (PV) de EPC, 1,0 ml/kg de PV de Ovaprim®, 1,8 ml/kg de PV de acetato de busserelina e 1,4 ml/kg de PV de solução salina (0,9% de NaCl) como grupo controle. O volume de sêmen registrado nos reprodutores induzidos com EPC ($10,22 \pm 5,38$ ml/kg de PV) foi maior ($P<0,05$) do que o volume médio observado nos animais tratados com Ovaprim® ($6,17 \pm 2,20$ ml/kg), acetato de busserelina ($5,60 \pm 2,50$ ml/kg) e solução salina ($0,47 \pm 0,23$ ml/kg). Não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) para a osmolaridade, viabilidade e morfologia espermática entre os animais induzidos e não induzidos. A produção espermática total registrada nos peixes induzidos, que foi de $5,69 \pm 3,30 \times 10^{10}$ spz/kg com EPC, de $7,79 \pm 4,33 \times 10^{10}$ spz/kg com Ovaprim® e de $6,47 \pm 3,81 \times 10^{10}$ spz/kg com acetato de busserelina, não

apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$), mas foram significativamente diferentes dos valores médios observados em peixes não induzidos, que foi de $1,17 \pm 6,14 \times 10^{10}$ spz/kg ($P<0,05$). A motilidade e as velocidades espermáticas (velocidade curvilínea, velocidade média do deslocamento e velocidade em linha reta) foram significativamente maiores ($P<0,05$) nos peixes induzidos, do que as observadas em peixes não induzidos durante os primeiros 20 s após ativação do sêmen com água destilada, porém, não houve diferenças significativas entre os tratamentos hormonais ($P>0,05$). O uso dos análogos de GnRH promovem uma qualidade espermática similar à observada com o uso de EPC, e neste sentido recomenda-se o uso de acetato de buserelina como uma alternativa viável e econômica ao uso de EPC como indutor da espermição de *Steindachneridion scriptum*.

Palavras-chave: CASA, EPC, Ovaprim, buserelina.

Highlights

- Primeiro estudo que aborda o uso do Ovaprim® e do acetato de buserelina como promotores da espermição em reprodutores de *Steindachneridion scriptum* mantidos em condições de cativeiro.
- O acetato de buserelina foi uma alternativa eficiente e econômica para atingir a maturação final do *S. scriptum* em condições de cativeiro.
- Machos maduros que não foram submetidos à terapia hormonal apresentaram sêmen com qualidade inferior à dos animais induzidos com hormônios exógenos.

ABSTRACT

This study evaluated the use of synthetic analogues of gonadotropin releasing hormone (GnRH-a) as an economically viable alternative to the traditional use of carp pituitary extract (CPE), which has been the only hormonal treatment used to promote the spermiation of *Steindachneridion scriptum* under captive conditions. We used males ($n=48$) with a mean weight of 415.40 ± 9.40 g, which were distributed in a completely randomized design in four treatments using total CPE doses of 4.4 mg/kg of body weight (BW), Ovaprim® doses of 1.0 ml/kg of BW, buserelin acetate doses of 1.8 ml/kg of BW and saline solution (0.9% NaCl) dose 1.4 ml/kg of BW, used as a control. The sperm volume 10.22 ± 5.38 ml/kg of BW recorded in broodstock CPE-induced was significantly higher ($P<0.05$) than the mean volume observed in

broodstock treated with Ovaprim® (6.17 ± 2.20 ml/kg), buserelin acetate (5.60 ± 2.50 ml/kg) or saline solution (0.47 ± 0.23 mL/kg). No significant differences ($P>0.05$) were observed for osmolarity, viability and sperm morphology between the induced and non-induced animals. Total sperm production in fish induced which were $5.69 \pm 3.30 \times 10^{10}$ spz/kg for CPE, $7.79 \pm 4.33 \times 10^{10}$ spz/kg for Ovaprim® and $6.47 \pm 3.81 \times 10^{10}$ spz/kg for buserelin acetate, did not show difference ($P>0.05$), but were different from non-induced animals, which was $1.17 \pm 6.14 \times 10^{10}$ spz/kg ($P<0.05$). Motility and sperm velocity (curvilinear velocity, average path velocity and straight line velocity) were significantly higher ($P<0.05$) in induced fish than those observed in fish not induced during the first 20 s after sperm activation. However, no significant differences were found between the hormonal treatments ($P>0.05$). The use of GnRH analogs promotes a similar sperm quality that observed with the use of CPE, it is recommended the use of buserelin as a viable and economical alternative to the use CPE as spermiation inducer on *Steindachneridion scriptum*.

Keywords: CASA, CPE, Ovaprim, buserelin.

Highlights:

- First study that used Ovaprim® and buserelin acetate to promote the spermiation of *Steindachneridion scriptum* under captive conditions.
- Buserelin acetate was an effective and economical alternative to get final maturation on *S. scriptum* under captive conditions.
- Mature males without hormone therapy have a less sperm quality than animals induced with exogenous hormones.

1. INTRODUÇÃO

Os teleósteos migradores, quando mantidos em confinamento, apresentam disfunções relacionadas aos estágios finais do processo reprodutivo (maturação final dos ovócitos, ovulação, desova e espermição), embora a maturação gonadal em algumas espécies reoflicas seja atingida em condições de criação (Donaldson e Hunter, 1983; Zohar e Mylonas, 2001). Em condições naturais, fatores ambientais (temperatura, fotoperíodo, condutividade da água, entre outros), nutricionais (qualidade do alimento consumido, acúmulo de reservas energéticas, entre outros) e sociais (tamanho corporal, proporcão sexual, hierarquias, entre outros) são os principais

moduladores do processo reprodutivo nestas espécies, dado que a influência destes fatores sobre a produção de hormônios envolvendo o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) são fundamentais para o sucesso reprodutivo (de Vlaming, 1972; Peter e Yu, 1997; Wang et al., 2006, Migaud et al., 2013).

As disfunções reprodutivas podem estar associadas ao estresse crônico nos exemplares, produto do confinamento, e/ou à falta de um ambiente natural apropriado que promova os processos reprodutivos. Estes aspectos seriam os responsáveis pelo surgimento de perturbações endócrinas no eixo HHG que estão normalmente associadas a alterações na produção e liberação de substâncias com ação química como o hormônio-liberador de gonadotropinas (GnRH), os hormônios gonadotrópicos folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), assim como os hormônios esteroides gonadais, os andrógenos, progestagênicos e estrógenos (Zohar e Mylonas, 2001; Mylonas et al., 2010, Honji et al., 2015, Moreira et al., 2015; Zupa et al., 2017).

Para superar essas disfunções são utilizadas terapias hormonais, sendo uma das mais utilizadas a aplicação intramuscular e/ou intraperitoneal de indutores hormonais como o extrato de hipófise de peixe contendo gonadotropinas (FSH/LH), algumas gonadotropinas exógenas (ex. gonadotropina coriônica humana) e, também, o uso de análogos do GnRH, originários de mamíferos ou de outros teleósteos. Esta última pode ser aplicada por meio de injeções ou de implantes de liberação lenta, permitindo a produção de gonadotropinas endógenas, cuja ação sobre as gônadas é mais eficiente, melhorando assim o estímulo da produção de hormônios esteroides (Ingram et al., 2005; Mylonas et al., 2010; Hafeez-ur-Rehman et al., 2015; Martins et al., 2017).

Na América Latina, o extrato pituitário de carpa (EPC) é o produto tradicionalmente utilizado na reprodução induzida de peixes de água doce. Como a quantidade de gonadotropinas presente no momento da coleta da hipófise de carpa está sujeita a variações individuais próprias das condições fisiológicas e genéticas dos animais coletados (Melamed et al., 1998; Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007), estas variações, somadas à possibilidade de transmissão de doenças e ao alto custo que o EPC pode alcançar no mercado (Zaniboni-Filho, 1995; Cejko et al., 2012; Brabo et al., 2015), são algumas das razões pelas quais há uma constante procura por alternativas ao uso do EPC para se alcançar o sucesso reprodutivo de espécies reofílicas mantidas em condições de cativeiro (Britz, 1991; Streit Jr et al., 2003; Mylonas e Zohar, 2007; Andrade et al., 2015). Nesse sentido, os análogos do

GnRH constituem uma alternativa eficiente ao uso do EPC, uma vez que são produtos sintéticos que apresentam alta estabilidade molecular, ausência de risco biológico e homogeneidade entre os lotes, sendo que sua estrutura química (peptídeos) não estimula reações imunológicas nos reprodutores, evitando a resistência a sucessivos programas de indução hormonal (Mylonas et al., 2010; Vazirzadeh et al., 2011; Itzész et al., 2015).

Entre os análogos do GnRH utilizados em Siluriformes e Characiformes está o Ovaprim®, produto que contém o hormônio análogo ao liberador de gonadotropinas em salmão (sGnRH-a) associado a um agente antidopaminérgico. Este produto vem sendo testado em diferentes protocolos de indução hormonal, promovendo a desova e/ou espermiacão, com resultados variáveis, de algumas espécies nativas da América do Sul como *Rhamdia quelen* (Itzész et al., 2015), *Colossoma macropomum* (Arias-Acuña e Hernández-Rangel, 2009), *Prochilodus lineatus* (Viveiros et al., 2015), *Pseudoplatystoma fasciatum* (Nuñez et al., 2008), *Pimelodus pictus* e *Piaractus brachypomus* (Hill et al., 2009). Por outro lado, o acetato de buserelina, um análogo do hormônio liberador de gonadotropinas de mamíferos (mGnRH-a) muito utilizado em bovinos e equinos, tem sido pouco testado em peixes, para os quais resultados positivos de desova e/ou espermiacão foram relatados para *P. lineatus* (Andrade et al., 2015), *Brycon orbignyanus* (Paulino et al., 2011) e *P. brachypomus* (Chaves-Moreno et al., 2012).

Para *Steindachneridion scriptum* (Miranda Ribeiro, 1918) o extrato pituitário de carpa tem sido o único tratamento hormonal utilizado para promover a espermiacão e a desova desta espécie em condições de cativeiro. *S. scriptum* é um Siluriforme de grande porte que pertence à família Pimelodidae. Esta espécie, que é nativa das bacias hidrográficas do rio Uruguai e do Alto rio Paraná, apresenta um comportamento preferencialmente noturno e hábito alimentar predominantemente piscívoro (Zaniboni-Filho e Schulz, 2003; Garavello, 2005). Considerada uma espécie reofílica, *S. scriptum* realiza pequenos deslocamentos migratórios, condição que impede a reprodução natural dos animais mantidos em condições de cativeiro (Zaniboni-Filho et al., 2010). Além disso, *S. scriptum* é considerada uma espécie ameaçada de extinção, e sua captura no ambiente natural atualmente é proibida pelo Ministério do Meio Ambiente Brasileiro (MMA, 2017), sendo, portanto, necessário compreender melhor a sua biologia reprodutiva, assim como aperfeiçoar e explorar novas técnicas de propagação artificial.

Atualmente os análogos do GnRH vem apresentando resultados positivos em diversas espécies de água doce sendo uma opção prática e de baixo custo, e, neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de Ovaprim® e o acetato de busarelina como alternativas ao uso do EPC como promotor da espermiacção de *S. scriptum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizados machos adultos de *S. scriptum* ($n = 48$) com 37 meses de idade, peso médio de $415,4 \pm 9,40$ g e comprimento total $35,12 \pm 0,05$ cm (média \pm desvio padrão), identificados com marcas eletrônicas (PIT-tag) implantadas intramuscularmente na região dorsal. Esses peixes foram obtidos a partir da reprodução induzida de animais (F1) cuja linhagem deriva de reprodutores selvagens provenientes da bacia do alto rio Uruguai. Os animais foram estocados em três caixas de polietileno com volume útil de 710 L em uma densidade de 75 peixes/caixa (106 peixes/m³).

As caixas foram instaladas em sistema fechado de recirculação de água, cujas variáveis de qualidade de água foram: temperatura da água de $26,74 \pm 0,51$ °C, pH de $7,23 \pm 0,36$, salinidade de $2,10 \pm 0,46$ g/L, e concentrações de oxigênio dissolvido, amônia total e nitrito de $6,01 \pm 0,51$, $0,15 \pm 0,19$ e $0,04 \pm 0,14$ mg/L, respectivamente. O fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, foi mantido utilizando lâmpadas de led (18W) instaladas no teto do laboratório e ligadas a um timer analógico. Após a fase de larvicultura e durante os subsequentes 36 meses de vida os peixes foram alimentados com ração comercial extrusada (40% de proteína bruta), sendo alimentados até a saciedade aparente ao longo da fase juvenil e a uma taxa de arraçoamento de 1,0 % da biomassa total ao dia durante a fase adulta sendo que as quantidades fornecidas durante esta fase foram sempre ajustadas após a realização de biometrias mensais.

2.1. Indução hormonal e qualidade espermática

Machos maduros, cuja liberação de sêmen foi confirmada mediante leve pressão abdominal, foram selecionados, pesados e transferidos das caixas de 710 L para pequenos tanques-rede dentro do mesmo sistema de recirculação, nos quais os peixes foram distribuídos segundo um delineamento experimental inteiramente ao acaso em quatro tratamentos com 12 peixes cada. Os tratamentos hormonais incluíram o uso de EPC em dose total injetada de 4,4 mg/kg de peso vivo (PV), o

Ovaprim® (20 µg de sGnRH-a + 10 mg de Domperidone/mL), em dose total aplicada de 1,0 mL/kg de PV, o acetato de buserelina (0,004 mg de GnRH-a/mL, concentração disponível no produto Sincroforte®) em dose total de 1,8 mL/kg de PV e solução salina (0,9% de NaCl) em dose total de 1,4 mL/kg de PV, como grupo controle. As dosagens utilizadas foram aplicadas por via intramuscular em duas doses, espaçadas em 12 h de intervalo, tendo sido administradas, respectivamente, 10% e 90% da dose total na primeira e na segunda aplicação.

Após 198 horas-grau (26,5°C), o sêmen foi extraído individualmente mediante massagem abdominal no sentido crânio-caudal e coletado diretamente da papila urogenital com o auxílio de seringas graduadas, evitando-se contaminar as amostras com muco e/ou urina. O volume do sêmen foi aferido diretamente na seringa e armazenado em caixa de isopor contendo termo-gel em seu interior para manter a temperatura entre 8 e 10°C. Posteriormente, de forma individualizada e em triplicata, foram mesuradas as seguintes variáveis de qualidade do sêmen:

pH: A leitura desta variável foi realizada sobre uma amostra do sêmen fresco com o auxílio de um medidor de pH digital.

Osmolaridade do plasma seminal: Amostras individualizadas do sêmen coletado foram depositadas em microtubos tipo Eppendorf de 2,5 mL e centrifugadas a 12.000 rpm por 15 min. Uma vez separado, o plasma seminal foi conservado a -25 °C para posterior determinação da osmolaridade em osmômetro crioscópico (PLZ, modelo PLZ-1000). Para determinar a osmolaridade do sêmen coletado a partir dos reprodutores não induzidos, foi necessário realizar dois “pools” de plasma seminal, sendo que para cada um deles foi necessário misturar o volume total de sêmen coletado a partir de seis machos.

Viabilidade espermática: O corante eosina-nigrosina foi utilizado para mostrar o estado de integridade da membrana celular. Para tanto foram utilizados microtubos tipo Eppendorf de 2,0 mL, aos quais foram adicionados 10 µL de sêmen previamente diluídos em solução salina (0,9% de NaCl) a uma proporção de 1:10, e em seguida foram adicionados 20 µL de eosina (3%). Posteriormente foram acrescentados 40 µL de nigrosina (5%) à solução (sêmen+eosina). Após esse procedimento, foi depositado 1,0 µL da solução (sêmen+eosina+nigrosina) em uma lâmina de vidro para microscopia e realizado um esfregaço ao longo da superfície da mesma. As lâminas foram expostas ao ar livre para secagem e, uma vez secas, foram levadas ao microscópio de luz (Leica ICC50HD, objetiva 100x) para realizar a contagem de 250 células. Foram classificados como espermatozoides

viáveis aqueles cujo citoplasma não foi corado, indicando que a membrana celular encontrava-se íntegra, e como espermatozoides não viáveis aqueles cujo citoplasma apresentava algum tipo de tingimento, dado que a membrana celular apresentava alguma irregularidade que permitiu a penetração do corante.

Espermatócrito: Foi determinado através do preenchimento de tubos capilares de micro-hematócrito com sêmen fresco (aproximadamente 90% do capilar) submetidos à centrifugação por 15 min a 12.000 rpm para posterior avaliação do percentual da massa celular presente no sêmen através de uma régua hematócrita.

Concentração espermática: Para definir esta variável, uma amostra de sêmen fresco foi fixada em formol tamponado 4,0% (10 μ L de sêmen: 90 μ L de formol) e posteriormente 1,0 μ L desta solução foi diluído em solução salina 0,9% a uma proporção de 1:1000. A contagem das células espermáticas foi realizada em câmara hematómetrica de Neubauer preenchida com 10 μ L da solução final e após o material diluído ser deixado em repouso por dez minutos para sedimentação, foi realizada a contagem sobre cinco quadrantes do campo central.

Produção espermática: O total de espermatozoides produzidos por kg de peso vivo foi calculado utilizando-se a concentração espermática e o volume total de sêmen ajustado por peso, variáveis aferidas em cada um dos animais.

Morfologia espermática: A partir da mesma amostra de sêmen fixada em formol 4,0 %, foram coletados 10 μ L que foram diluídos em solução salina 0,9% a uma proporção de 1:1000. Posteriormente 10 μ L desta solução foram homogeneizados com 40 μ L do corante rosa de bengala em microtubo tipo Eppendorf de 2,0 mL. Após este procedimento 2,0 μ L foram depositados sobre uma lâmina de vidro para microscopia, e com ajuda de uma segunda lâmina, foi realizado o esfregaço ao longo da superfície da mesma, evitando ao máximo o atrito entre as lâminas de vidro. A lâmina foi levada ao microscópio de luz (objetiva 100x) para avaliar a morfologia de 200 células espermáticas, e as anormalidades, quando observadas, foram classificadas como anormalidades do tipo primária (espermatozoides com cauda dobrada, cauda enrolada, cauda curvada, cabeça pequena, cabeça grande, cauda dupla) ou secundária (espermatozoides com cauda tipo gancho, sem cabeça ou sem cauda).

Motilidade e velocidade espermática: Estes parâmetros foram avaliados com auxílio de um sistema automático de análise seminal (CASA - Computer Assisted Sperm Analysis) utilizando o procedimento sugerido por Neumann et al. (2013), sendo que o “plugin CASA” para o ImageJ, foi padronizado para *S. scriptum* utilizando-se a

metodologia descrita por Sanches et al. (2013). Para dar início ao procedimento de ativação espermática uma amostra de 1,0 μL de sêmen fresco foi depositada dentro de um microtubo de *Eppendorf* de 2,0 mL e acrescentada água destilada a uma temperatura $\approx 23^\circ\text{C}$, usando uma proporção de 1:1000 (sêmen/água). Após ativação do sêmen, 1 μL desta solução (sêmen+água) foi depositado em câmara de Neubauer espelhada e coberta com lamínula de vidro. Imediatamente após este procedimento, a amostra foi levada ao microscópio de luz (Leica ICC50HD, objetiva 10x) para dar início à captura de imagens utilizando uma câmara (Basler, A602 FC-2) acoplada ao microscópio e conectada a um computador. Para cada peixe foram produzidos três vídeos a uma taxa de 100 frames/segundo, com duração de 60 s cada.

As imagens capturadas foram processadas utilizando o software ImageJ/plugin CASA, conforme metodologia descrita por Sanches et al. (2010). A análise foi realizada por um segundo nos tempos 10, 20, 30, 40 e 50 s pós-ativação, nos quais foram avaliadas a motilidade espermática (MOT, em %: taxa de espermatozoides em movimento), a velocidade curvilínea (VCL, em $\mu\text{m/s}$: velocidade da trajetória real do espermatozoide), a velocidade média do deslocamento (VMD, em $\mu\text{m/s}$: velocidade da trajetória média do espermatozoide), a velocidade em linha reta (VLR, em $\mu\text{m/s}$: velocidade média em função da linha reta estabelecida entre o primeiro e o último ponto da trajetória do espermatozoide) e a retilinearidade (RET, em %: relação percentual entre VLR e VMD que estima quão próxima de uma linha reta se encontra a trajetória espermática).

Todos os procedimentos realizados no presente trabalho foram realizados atendendo as exigências do Protocolo CEUA (PP00788), aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/UFSC.

2.2. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados foram expressos como médias \pm erro padrão e foram submetidos à análise de variância (ANOVA); quando observadas diferenças significativas entre os tratamentos, foi realizada uma comparação de médias utilizando o teste de Duncan ao nível de 5,0% de probabilidade. As premissas de normalidade e homocedasticidade foram verificadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene.

As variáveis expressas em porcentagem sofreram transformação angular antes do uso da ANOVA. A comparação entre tratamentos para a motilidade e as velocidades espermáticas foi observada para cada tempo de avaliação

3. RESULTADOS

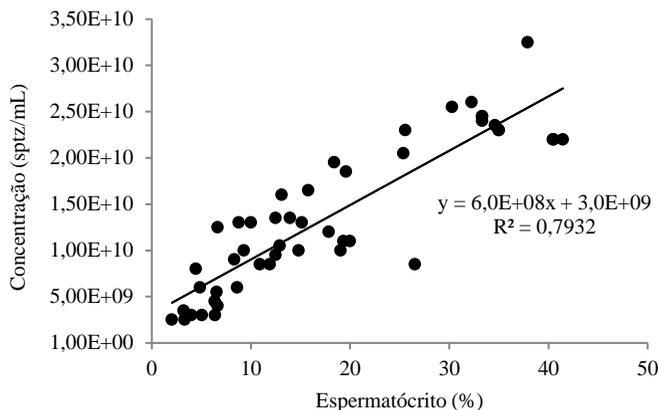
Todos os tratamentos hormonais promoveram a indução da espermição em *S. scriptum* sem alterar o pH do sêmen, que permaneceu próximo da neutralidade ou levemente alcalino. Da mesma forma, não foram observadas alterações na osmolaridade do plasma seminal, que apresentou um valor médio de $256,41 \pm 10,58$ mOsm/kg. Não obstante, o volume de sêmen $10,22 \pm 5,38$ mL/kg de PV alcançado pelos reprodutores tratados com EPC foi significativamente maior ($P < 0,05$) que o volume médio observado nos animais tratados com Ovaprim® e Acetato de buserelina, cujo valor médio ficou em torno de 7,0 mL/kg de PV.

Os animais que receberam solução salina, que não promoveu a espermição, apresentaram os maiores valores médios de concentração espermática e espermátócrito com $2,44 \times 10^{10} \pm 0,29 \times 10^{10}$ spz/mL e $35,63 \pm 3,62\%$, respectivamente, sendo significativamente maiores ($P < 0,05$) do que os observados nos animais submetidos à terapia hormonal (Tabela 1).

Foi possível estabelecer uma relação diretamente proporcional ($R^2=0,79$; $P < 0,05$) entre a concentração espermática e o espermátócrito, de modo que o número de espermatozoides por mililitro de sêmen nos reprodutores de *S. scriptum* apresenta um incremento de $6,00 \times 10^8$ espermatozoides por cada 1,0% de acréscimo no espermátócrito (Figura 1).

A viabilidade espermática observada em todos os animais não foi alterada pela indução hormonal, uma vez que em torno de 90% dos espermatozoides avaliados conservaram a integridade da membrana celular. Da mesma forma, a porcentagem de células espermáticas com algum tipo de anormalidade morfológica ficou abaixo de 13%, não tendo sido observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 1).

Figura 1: Relação entre a concentração espermática e o espermatócrito do sêmen coletado de *Steindachneridion scriptum* ($n=48$), submetidos a injeções intramusculares com diferentes indutores hormonais (extrato pituitário de carpa; Ovaprim® e acetato de buserelina) e solução salina (0,9% de NaCl) ($P<0,05$).



A motilidade espermática observada nos peixes submetidos ao tratamento hormonal não apresentou diferenças significativas ($P>0,05$) entre os hormônios utilizados, com valores médios em torno de 80% aos 10 s pós-ativação. No entanto, estes valores quando comparados com a resposta observada nos peixes não induzidos, apresentaram diferenças ($P<0,05$), visto que a motilidade média aos 10 s foi em média 19,5% menor que a observada nos peixes induzidos. Diferenças entre os peixes induzidos e não induzidos permaneceram ao longo dos 50 s de avaliação e a maior diferença foi observada aos 30 s pós-ativação, quando os peixes não induzidos apresentaram motilidade 31,73% menor que de peixes que receberam a terapia hormonal. Contudo, a motilidade espermática, em termos gerais, independente do processo de indução hormonal, apresentou curta duração, com queda expressiva da porcentagem de células em movimento, chegando a valores inferiores a 15% durante os primeiros 50 s pós-ativação (Figura 2A).

A velocidade curvilínea registrada 10 s após ativação do sêmen nos peixes não induzidos ($87,21 \pm 18,44 \mu\text{m/s}$) foi significativamente menor do que a registrada nos peixes que receberam tratamento hormonal, cuja velocidade média permaneceu acima dos $105 \mu\text{m/s}$ ($P<0,05$); a diferença permaneceu até os primeiros 20 s após ativação do sêmen. Porém, aos 30 s esta velocidade não apresentou mais diferenças entre os grupos, ficando em torno dos $45 \mu\text{m/s}$ (Figura 2B).

Tabela 1: Qualidade do sêmen (média \pm EP) de *Steindachneridion scriptum* submetidos aos indutores hormonais EPC: extrato pituitário de carpa; Ovaprim®: sGnRH-a + domperidone; Acetato de busserelina: mGnRH-a e Solução salina: NaCl 0,9%.

Parâmetro	Indutor hormonal			
	EPC	Ovaprim®	A. Busserelina	Solução salina
pH	8,04 \pm 0,27 ^a	7,80 \pm 0,26 ^a	7,84 \pm 0,34 ^a	*
Volume (mL/Kg)	10,22 \pm 5,38 ^a	6,17 \pm 2,20 ^b	5,60 \pm 2,50 ^b	0,47 \pm 0,23 ^c
Osmolaridade (mOsm/Kg)	253,54 \pm 30,92 ^a	271,50 \pm 5,75 ^a	253,83 \pm 7,72 ^a	246,75 \pm 29,89 ^{a1}
Concentração espermática (Sptz/mL)	0,62 \pm 0,34x10 ^{10c}	1,23 \pm 6,13x10 ^{10b}	1,17 \pm 4,34x10 ^{10b}	2,44 \pm 2,89x10 ^{10a}
Produção espermática total/kg	5,69 \pm 3,30x10 ^{10a}	7,79 \pm 4,33x10 ^{10a}	6,47 \pm 3,81x10 ^{10a}	1,17 \pm 6,14x10 ^{10b}
Espermatócrito (%)	7,77 \pm 6,56 ^c	14,81 \pm 7,13 ^b	13,25 \pm 4,51 ^b	35,63 \pm 3,62 ^a
Viabilidade espermática (%)	89,46 \pm 9,42 ^a	89,80 \pm 7,33 ^a	90,61 \pm 9,05 ^a	91,48 \pm 7,52 ^a
Espermatozoides normais (%)	91,10 \pm 7,87 ^a	87,98 \pm 9,49 ^a	90,08 \pm 9,56 ^a	92,92 \pm 2,39 ^a
Anormalidades primárias (%) ²	15,85 \pm 16,39 ^a	15,52 \pm 19,61 ^a	30,95 \pm 31,43 ^a	24,44 \pm 20,36 ^a
Anormalidades secundárias (%) ²	84,15 \pm 16,39 ^a	84,48 \pm 19,61 ^a	69,05 \pm 31,43 ^a	75,56 \pm 20,36 ^a

Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

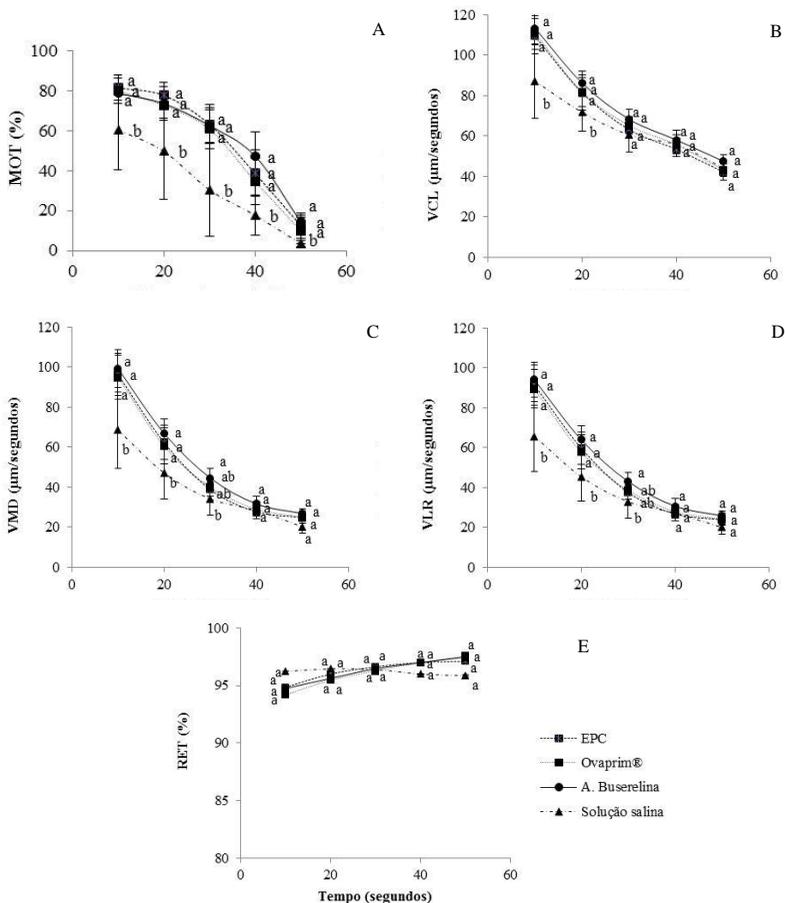
*Volume insuficiente para avaliação.

¹Avaliação realizada sobre dois “pools” de plasma seminal, sendo que cada pool foi formado a partir da mistura do volume total de sêmen coletado em seis peixes.

² Anormalidades espermáticas primárias (cauda dobrada, cauda enrolada, cauda curvada, cabeça pequena, cabeça grande, dupla cauda) e secundárias (cauda gancho, sem cabeça, sem cauda).

A velocidade média do deslocamento espermático observada nos animais induzidos foi significativamente maior do que a observada nos reprodutores submetidos ao tratamento com solução salina ($P < 0,05$). Esta diferença permaneceu até os primeiros 30 s após ativação do sêmen, já que, aos 50 s após ativação, a velocidade média em todos os espermatozoides avaliados não superava os 27 $\mu\text{m/s}$, sendo esta uma resposta similar entre todos os peixes avaliados (Figura 2C).

Figura 2: A) Motilidade espermática (MOT), B) Velocidade curvilinear (VCL), C) Velocidade média do deslocamento (VMD), D) Velocidade em linha reta (VLR) e E) retilinearidade (RET) do sêmen de *Steindachneridion scriptum* submetidos aos indutores hormonais EPC: extrato pituitário de carpa; Ovaprim®: sGnRH-a + domperidone; Acetato de busserelina: mGnRH-a e Solução salina: NaCl 0,9% durante os primeiros 50 s após ativação com água destilada. Letras diferentes para o mesmo tempo de avaliação indicam diferenças significativas pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de significância.



A velocidade em linha reta dos espermatozoides apresentou a mesma dinâmica ao longo dos 50 s após ativação do sêmen. A velocidade média entre o primeiro ponto e o último ponto da trajetória espermática aos 10 s foi maior em 25,89 $\mu\text{m/s}$ nos peixes induzidos, quando comparada à velocidade registrada pelos espermatozoides dos peixes não induzidos. No entanto, aos 50 s a velocidade média dos espermatozoides para todos os exemplares avaliados ficou em torno de 24,62 $\mu\text{m/s}$, sem apresentar diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,05$) (Figura 2D).

A retilinearidade (RET) dos espermatozoides de *S. scriptum* submetidos às condições experimentais anteriormente descritas não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,05$), sendo que ao longo dos primeiros 50 s após ativação do sêmen a trajetória espermática permaneceu superior a 93%, indicando que o movimento espermático para esta espécie é altamente linear quando ativado com água destilada (Figura 2E).

O custo da indução hormonal com o uso de acetato de buserelina para promover a espermiacção dos exemplares de *S. scriptum* mantidos em condições de laboratório foi o mais baixo, sendo necessários US\$ 1,69/kg de peso vivo (PV). Cabe destacar que sua apresentação comercial, pronta para uso, facilitou a realização do protocolo de indução hormonal, o que reduziu o tempo de aplicação. Por outro lado, o EPC e o Ovaprim®, foram as opções que representaram o maior investimento, sendo necessários, respectivamente US\$ 2,45 e 4,79/por kg de PV para promover a espermiacção dos machos nas condições em que este experimento foi desenvolvido (Tabela 2).

Tabela 2: Custo da indução hormonal por kg de peso vivo de *Steindachneridion scriptum* mantidos em condições de laboratório e submetidos aos indutores hormonais EPC: extrato pituitário de carpa (EPC), Ovaprim® (sGnRH-a + domperidone) e Acetato de buserelina (mGnRH-a).

Indutor hormonal	Apresentação	Preço (USD)*	Dose total/kg de PV	USD*/kg de peixe induzido
EPC	Frasco com 1,0 g	556,81	4,4 mg	2,45
Ovaprim®	Ampola de 10 mL	47,90	1,0 mL	4,79
Acetato de buserelina	Ampola de 20 mL	18,46	1,8 mL	1,69

* Cotação do dólar americano (15-04-2017 - R\$ 3,143);
PV= peso vivo do peixe.

4. DISCUSSÃO

O maior volume de sêmen registrado para peixes induzidos com EPC, quando comparado com o uso de outros indutores hormonais, é uma condição frequente para diversas espécies de água doce, incluindo os bagres *Silurus glanis* (Linhart e Billard, 1994) e *Clarias gariepinus* (Viveiros et al., 2002). No entanto, o aumento da produção do volume seminal dos exemplares de *S. scriptum* foi acompanhado por uma maior variação da resposta individual dos peixes tratados com EPC. Luz et al. (2001), também registraram ampla variação no volume do sêmen (4-20 mL/peixe) coletado de reprodutores selvagens de *S. scriptum* (peso médio de $2,64 \pm 1,18$ kg) induzidos com múltiplas dosagens de EPC.

O uso de análogos de GnRH em *S. scriptum* promoveu maior produção espermática quando comparada a do grupo controle com solução salina. Estes indutores hormonais podem incrementar significativamente a produção de espermatozoides em algumas espécies de água doce, conforme relatado por Cejko et al. (2012) em exemplares de *Leuciscus leuciscus*, cujo volume de sêmen e número total de espermatozoides produzidos por kg de peixe foi superior à resposta observada em peixes que receberam injeções de solução salina (0,9% de NaCl).

Este fenômeno promovido pelos indutores hormonais é muito variável entre os peixes teleósteos de água doce, uma vez que em algumas espécies, conforme observamos em *S. scriptum*, além do estímulo da produção do plasma seminal, há um incremento da espermatogênese, e como consequência disto observa-se um aumento no número total de espermatozoides produzidos por kg de peixe (Mylonas et al., 2017). Ainda assim, algumas espécies, como *Brycon amazonicus* (Pardo-Carrasco et al., 2006) e *C. gariepinus* (Viveiros et al., 2002), podem não apresentar qualquer tipo de alteração neste parâmetro, mesmo quando comparados com animais que não foram submetidos a procedimentos de indução hormonal. O incremento da produção de espermatozoides durante um curto período (<24h) é um aspecto que aperfeiçoa a reprodução, uma vez que dependendo da qualidade dos gametas masculinos é possível fertilizar um maior número de ovócitos ao fazer uso de uma adequada dose inseminante, conforme observado para *R. quelen* (Bombardelli et al., 2006), *Salminus brasiliensis* (Sanches et al., 2009) e *Brycon orbignyanus* (Felizardo et al., 2010).

A concentração espermática registrada neste trabalho se aproximou das registradas para outras espécies do mesmo gênero, visto que para *Steindachneridion melanodermatum* foram reportadas

concentrações entre 6,58 e 17,1 x 10⁹ spz/ml em reprodutores induzidos com dose única de EPC 3,0 mg/kg de PV (Marcos et al., 2015), enquanto que para *Steindachneridion parahybae* a concentração espermática em reprodutores não induzidos foi de 3,2 e 19,0 x 10⁹ spz/ml (Sanches et al., 2015).

A relação diretamente proporcional existente entre a concentração espermática e o espermatócrito para *S. scriptum* permite fazer uso da técnica do espermatócrito como uma ferramenta que pode estimar a concentração espermática de forma rápida sem a necessidade de investimentos relacionados com o uso de microscópios ou câmeras de Neubauer. Embora esta técnica não demande um alto treinamento operacional, segundo Sørensen et al. (2013), pode ser imprecisa quando comparada a outras técnicas, como a citometria de fluxo, que permite a avaliação mais precisa da densidade espermática, com baixos coeficientes de variação. A relação direta entre a concentração espermática e o espermatócrito também foi registrada para outras espécies como: *R. quelen*, *P. lineatus*, *Oreochromis niloticus* (Sanches et al., 2011), *Hippoglossus hippoglossus* (Tvedt et al., 2001) e *Anguilla anguilla* (Sørensen et al., 2013). Poucos são os casos em que a relação entre estas variáveis não é significativa, como relatado para *Rhinelepis aspera*, *S. brasiliensis* (Sanches et al., 2011) e *Gadus morhua* (Rakitin et al., 1999). No entanto, os autores destes trabalhos atribuem esta condição a diferentes erros, como os de diluição e/ou contaminação das amostras, durante o procedimento de análise.

Os valores de pH observados para o *S. scriptum* estão de acordo com a média registrada para outros bagres de água doce como *R. quelen*, entre 7,98 e 8,06 (Tessaro et al., 2012) e *S. melanodermatum*, entre 7-8 (Marcos et al., 2015). Da mesma forma, a variação registrada na osmolaridade do *S. scriptum* permaneceu dentro dos valores registrados para teleósteos cuja amplitude pode variar desde 230 ± 82 mOsm/kg em *Tinca tinca* até 414 ± 30 mOsm/kg em *Gadus morhua* (Alavi e Cosson, 2006). Sabe-se que o pH e a osmolaridade do sêmen são fatores que influenciam a ativação espermática dos peixes (Alavi e Cosson, 2005, 2006) e como não foram observadas alterações nestes parâmetros nos reprodutores de *S. scriptum* quando submetidos a indução hormonal, sugere-se que o uso de Ovaprim® e do acetato de buserelina, nas condições descritas neste experimento, não promoveram efeitos negativos sobre estas variáveis.

Considerando que o acetato de buserelina e o Ovaprim® não promoveram mudanças significativas na integridade da membrana celular e nas anormalidades morfológicas dos espermatozoides de

S. scriptum, a gama de indutores hormonais que podem ser usados nesta espécie pode ser ampliada, uma vez que estas variáveis estão fortemente associadas com a eficiência das taxas de fertilização de ovócitos. Resultados similares foram observados para *Brycon amazonicus* (Pardo-Carrasco et al., 2006) e para o bagre *Leiarius marmoratus* (Araújo et al., 2014). No entanto, existem relatos que indicam a influência da indução hormonal sobre a porcentagem de anormalidades morfológicas, como observado em reprodutores de *C. macropomum*, cuja taxa de anormalidades espermáticas mostrou aumento quando os animais foram induzidos com implantes de Ovopel (Martins et al., 2017).

Segundo Herman et al. (1994), as anormalidades espermáticas em vertebrados estão mais associadas a problemas que envolvem diretamente os reprodutores, como grau de consanguinidade, idade, estresse ambiental, doenças e a qualidade da dieta fornecida, de modo que estes aspectos interferem nos processos de formação do espermatozoide. Em bagres de água doce submetidos a procedimentos de indução hormonal, como *R. quelen* (Tessaro et al., 2012), *S. melanodermatum* (Marcos et al., 2015) e *S. parahybae* (Sanchez et al., 2015), é frequente o registro de anormalidades morfológicas que superam 20% do total de células. Como as anormalidades observadas no sêmen de *S. scriptum* não ultrapassaram 13%, esta característica pode ser considerada como uma vantagem para o uso de biotecnologias como a criopreservação, uma vez que ela aumenta as chances de se obter maior número de células normais após o procedimento de descongelamento.

A motilidade espermática é um dos parâmetros mais utilizados para estimar a qualidade dos gametas de machos, e sua forte correlação com as taxas de fertilização e eclosão observadas por vários autores em teleósteos ressalta a importância de aferir esta variável como medida da capacidade de fertilização do sêmen em peixes (Mylonas et al., 2017). Esta variável pode ser afetada por fatores como a osmolaridade, a concentração de íons e o pH (Wilson-Leedy et al., 2009; Ciereszko et al., 2010). Já o efeito dos indutores hormonais sobre a motilidade espermática é pouco frequente, e quando observado, na maioria dos casos envolve espécies que apresentam um sêmen muito viscoso ou que não liberam sêmen em condições de criação, como sugerido por Mylonas et al. (2017).

Em *S. scriptum* as maiores taxas motilidade espermática foram observadas durante os primeiros segundos após ativação. No entanto, a queda expressiva após 20 s foi também uma condição registrada para *S. parahybae* (Sanchez et al., 2013) e *R. quelen* (Sanchez et al., 2010).

Este tipo de resposta coincide com a revisão apresentada por Dzyuba e Cosson (2014), na qual os autores afirmaram que a motilidade espermática em peixes de água doce normalmente não ultrapassa os 2 min, sendo que em alguns casos o pico de motilidade pode ser inferior aos 30 s. A curta duração da motilidade espermática em teleósteos de água doce está associada à exposição dos espermatozoides ao ambiente hipotônico da solução ativadora (água doce), o que aumenta o fluxo de entrada e saída de íons no citoplasma celular e promove danos na estrutura do flagelo e eleva o consumo de ATP no axonema (Perchec et al., 1995; Hadi Alavi et al., 2009).

Em espécies como *R. quelen* (Tessaro et al., 2012), *L. leuciscus* (Cejko et al., 2012) e *C. macropomum* (Gallego et al., 2017) as velocidades curvilínea e em linha reta apresentaram correlação positiva com as taxas de fertilização observadas em reprodutores mantidos em condições de cativeiro. Segundo Ottesen et al. (2009), muito provavelmente uma maior velocidade torna o espermatozoide mais competitivo para atingir a micrópila dos ovócitos. Neste sentido a velocidade média do deslocamento também pode desempenhar um papel importante na determinação de maiores taxas de fertilidade, inclusive apresentando relação direta com a paternidade relativa por competição espermática, como observado em *Xiphophorus helleri* (Gasparini et al., 2010).

Nos reprodutores de *S. scriptum* submetidos à terapia hormonal as maiores taxas de motilidade e velocidade espermática durante os primeiros 20 s após ativação do sêmen sugerem que os gametas liberados por estes reprodutores apresentam maior competitividade espermática para fertilizar os ovócitos quando comparados com os espermatozoides dos animais do grupo controle. Por outro lado, a motilidade e a velocidade espermática são ferramentas que em algumas espécies, como *Hippoglossus hippoglossus*, não predizem corretamente a capacidade de fertilização do espermatozoide, uma vez que os menores índices nestes parâmetros não reduzem as taxas de fertilização (Vermeirssen et al., 2004; Ottsen et al., 2009).

A alta retilinearidade (RET) observada no sêmen de *S. scriptum* durante os primeiros segundos após ativação do sêmen é uma característica que já foi observada em membros do mesmo gênero, como *S. parahybae* (Sanches et al., 2013). Embora alguns autores relacionem uma alta retilinearidade com maiores taxas de fertilização, existem divergências observadas na literatura sobre este tipo de associação (Gallego et al., 2017; Sanches et al., 2015). Segundo Wilson-Leedy et al. (2009) este movimento espermático varia entre os teleósteos, sendo

observado um movimento linear para alguns Cypriniformes, e um movimento mais circular em salmonídeos.

Os custos para uso dos diferentes hormônios utilizados mostraram o alto valor do EPC no mercado, uma das principais razões para a procura de um substituto ao seu uso, mas mesmo assim esses custos mantiveram-se abaixo dos valores alcançados com o uso do Ovaprim®. Por outro lado, o acetato de buserelina promoveu a espermiacção de *S. scriptum* com qualidade espermática similar a do EPC e do Ovaprim®, sendo este o produto mais econômico e de mais fácil acesso no mercado brasileiro, características que o tornam um substituto recomendável do EPC para aplicação em machos, embora ainda seja necessário avaliar sua eficiência como promotor da desova de *S. scriptum*.

5. CONCLUSÃO

A qualidade espermática dos reprodutores de *Steindachneridion scriptum* induzidos com acetato de buserelina e Ovaprim® foi similar à observada nos indivíduos induzidos com EPC. No entanto, recomenda-se o uso de acetato de buserelina como uma alternativa viável e econômica ao uso de EPC como indutor da espermiacção nesta espécie, uma vez que seu uso pode reduzir os custos e o tempo operacional empregado durante a indução hormonal dos machos desta espécie.

6. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida mediante o Programa Estudante-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) ao primeiro autor (Processo nº 15052125) e à equipe de trabalho do LAPAD pela assistência durante a execução do trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2005. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*. 29, 101-110.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*. 30, 1-14.

- Andrade, E.S., Carvalho, A.F.S., Ferreira, M.R., Paula, F.G., Rodrigues, F.S., Felizardo, V.O., Reis Neto, R.V., Murgas, L.D.S., 2015. Indutores hormonais na reprodução artificial de curimba (*Prochilodus lineatus*). Revista Brasileira de Reprodução Animal. 38, 7.
- Araújo, J.Ê.X.S., Streit Jr, D.P., Ribeiro, J.S.d.A., Martins, E.d.F.F., Souza, F.N., Oliveira, C.A.L.d., Ribeiro, R.P., Lopera-Barrero, N.M., Povh, J.A., 2014. Ovopel and Carp Pituitary Extract as Spawning Inducers in Males of the Amazon Catfish *Leiarius marmoratus* (Gill, 1970). Brazilian Archives of Biology and Technology. 57, 882-886.
- Arias Acuña, J.J., Hernández Rangel, J.L., 2009. Efectos del extracto hipofisiario de carpa común y el análogo de la GnRH sobre la maduración final del oocito y el desove de la cachama negra (*Colossoma macropomum*). Revista Científica. 19, 486-494.
- Bombardelli, R.A., Mörschbacher, E.F., Campagnolo, R., Sanches, E.A., Syperreck, M.A., 2006. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). Revista Brasileira de Zootecnia. 35, 1251-1257.
- Brabo, M.F., Reis, M.H.D., Veras, G.C., da Silva, M.J.M., de SOUZA, A.d.S.L., de Souza, R.A.L., 2015. Viabilidade econômica da produção de alevinos de espécies reofílicas em uma piscicultura na Amazônia oriental. Boletim do Instituto de Pesca. 1, 677-685.
- Britz, P., 1991. The utility of homoplastic pituitary glands for spawning induction of the African catfish (*Clarias gariepinus*) in commercial aquaculture in Africa. Water SA. 17, 237-241.
- Cejko, B.I., Targońska, K., Kowalski, R.K., Źarski, D., Sarosiek, B., Kucharczyk, D., Glogowski, J., 2012. The effectiveness of hormonal preparations (Ovopel, Ovaprim, LHRHa, hCG and CPE) in stimulating spermiation in dace *Leuciscus leuciscus* (L.). Journal of Applied Ichthyology. 28, 873-877.

- Chaves-Moreno, L., Chacón-Rodríguez, L., Lozada-Morales, J., Motta-Delgado, P., Murcia-Ordoñez, B., 2012. Evaluation in cachama (*Piaractus brachypomus*) of induced reproduction of with buserelin acetate. *Veterinaria y Zootecnia*. 6, 47-55.
- Ciereszko, A., Dietrich, G.J., Dietrich, M.A., Nynca, J., Kuźmiński, H., Dobosz, S., Grudniewska, J., 2010. Effects of pH on sperm motility in several Salmoniformes species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo trutta*, *Salmo salar* and *Thymallus thymallus*. *Journal of Applied Ichthyology*. 26, 665-667.
- de Vlaming, V.L., 1972. Environmental control of teleost reproductive cycles: a brief review. *Journal of fish Biology*. 4, 131-140.
- Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1983. 7 Induced Final Maturation, Ovulation, and Spermiation in Cultured Fish. *Fish Physiology*. 9, 351-403.
- Dzyuba, V., Cosson, J., 2014. Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella response. *Reproductive Biology*. 14, 165-175.
- Felizardo, V.d.O., Murgas, L.D.S., Drumond, M.M., Silva, J.d.A., 2010. Dose inseminante utilizada na fertilização artificial de ovócito de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). *Revista Ceres*. 57, 648-652.
- Gallego, V., Cavalcante, S.S., Fujimoto, R.Y., Carneiro, P.C.F., Azevedo, H.C., Maria, A.N., 2017. Fish sperm subpopulations: Changes after cryopreservation process and relationship with fertilization success in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Theriogenology*. 87, 16-24.
- Garavello, J.C., 2005. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology*. 3, 607-623.
- Gasparini, C., Simmons, L.W., Beveridge, M., Evans, J.P., 2010. Sperm swimming velocity predicts competitive fertilization success in the green swordtail *Xiphophorus helleri*. *PloS one*. 5, e12146.

- Hadi Alavi, S.M., Rodina, M., Viveiros, A.T.M., Cosson, J., Gela, D., Boryshpolets, S., Linhart, O., 2009. Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave parameters in Northern pike (*Esox lucius* L.). *Theriogenology*. 72, 32-43
- Hafeez-ur-Rehman, M., Ashraf, M., Abbas, F., Iqbal, K.J., Qureshi, I.A., Andleeb, S., 2015. Effect of different synthetic hormones and/or their analogues on induced spawning in *Channa marulius*. *Pakistan Journal of Zoology*. 47.
- Herman, H.A., Mitchell, J.R., Doak, G.A., 1994. The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle, Illinois.
- Hill, J.E., Kilgore, K.H., Pouder, D.B., Powell, J.F.F., Watson, C.A., Yanong, R.P.E., 2009. Survey of Ovaprim Use as a Spawning Aid in Ornamental Fishes in the United States as Administered through the University of Florida Tropical Aquaculture Laboratory. *North American Journal of Aquaculture*. 71, 206-209.
- Honji, R.M., Caneppele, D., Pandolfi, M., Lo Nostro, F.L., Moreira, R.G., 2015. Gonadotropins and Growth Hormone Family Characterization in an Endangered Siluriform Species, *Steindachneridion parahybae* (Pimelodidae): Relationship With Annual Reproductive Cycle and Induced Spawning in Captivity. *The Anatomical Record*. 298, 1644-1658.
- Ingram, B., Sungan, S., Gooley, G., Sim, S.Y., Tinggi, D., De Silva, S.S., 2005. Induced spawning, larval development and rearing of two indigenous Malaysian mahseer, *Tor tambroides* and *T. douronensis*. *Aquaculture Research*. 36, 983-995.
- Ittész, I., Szabó, T., Kronbauer, E.C., Urbányi, B., 2015. Ovulation induction in jundiá (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. *Aquaculture Research*. 46, 2924-2928.

- Linhart, O., Billard, R., 1994. Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis* L.) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. *Journal of Applied Ichthyology*. 10, 182-188.
- Luz, R.K., Ferreira, A.A., Reynalte-Tataje, D.A., Zaniboni-Filho, E., 2001. Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen de suruvi, *Steindachneridion scripta* (Pimelodidae). *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*. 27, 39-42.
- Marcos, R.M., Neumann, G., de Toledo, C.P.R., Sena, J.M., Baumgartner, G., Bombardelli, R.A., 2015. Seminal and spermiatic characteristics of fresh semen and the effects of sperm cooling in *Steindachneridion melanodermatum* (Garavello, 2005). *Semina: Ciências Agrárias*. 36, 4493-4506.
- Martins, E.d.F.F., Streit Jr, D.P., Abreu, J.S.d., Corrêa-Filho, R.A.C., Oliveira, C.A.L.d., Lopera-Barrero, N.M., Povh, J.A., 2017. Ovipel and carp pituitary extract for the reproductive induction of *Colossoma macropomum* males. *Theriogenology*. 98, 57-61.
- Melamed, P., Rosenfeld, H., Elizur, A., Yaron, Z., 1998. Endocrine regulation of gonadotropin and growth hormone gene transcription in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 119, 325-338.
- Migaud, H., Bell, G., Cabrita, E., McAndrew, B., Davie, A., Bobe, J., Herráez, M.P., Carrillo, M., 2013. Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Reviews in Aquaculture*. 5, S194-S223.
- MMA. Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameaçadas-de-extincao/fauna-ameaçada> (accessed 12 may 2017).

- Moreira, R.G., Honji, R.M., Melo, R.G., de Moraes Narcizo, A., Amaral, J.S., de Carvalho Araújo, R., Hilsdorf, A.W.S., 2015. The involvement of gonadotropins and gonadal steroids in the ovulatory dysfunction of the potamodromous *Salminus hilarii* (Teleostei: Characidae) in captivity. *Fish physiology and biochemistry*. 41, 1435-1447.
- Mylonas, C.C., Duncan, N.J., Asturiano, J.F., 2017. Hormonal manipulations for the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm quality. *Aquaculture*. 472, 21-44.
- Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*. 165, 516-534.
- Mylonas, C.C., Zohar, Y., 2007. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. in: Babin, P.J., Cerdà, J., Lubzens, E. (Eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 437-474.
- Neumann, G., Bombardelli, R. A.; Sanches, E. A., Toledo, C.P.R., 2013. Análise espermática computadorizada em peixes de água doce: procedimentos para uso do aplicativo CASA em software livre, Toledo.
- Núñez, J., Dugué, R., Corcuay Arana, N., Duponchelle, F., Renno, J.F., Raynaud, T., Hubert, N., Legendre, M., 2008. Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. *Aquaculture Research*. 39, 764-776.
- Ottesen, O.H., Babiak, I., Dahle, G., 2009. Sperm competition and fertilization success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*. 286, 240-245.

- Pardo-Carrasco, S.C., Zaniboni-Filho, E., Arias-Castellanos, J.A., Suárez-Mahecha, H., Atencio-García, V.J., Cruz-Casallas, P.E., 2006. Evaluation of milt quality of the yamú *Brycon amazonicus* under hormonal induction. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 19, 134-139.
- Paulino, M.S., Sampaio, M., Miliorini, A., Murgas, L., Felizardo, V., 2011. Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de buserelina. *Boletim do Instituto de Pesca*. 37, 39-45.
- Perchec, G., Jeulin, C., Cosson, J., Andre, F., Billard, R., 1995. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. *Journal of Cell Science*. 108, 747-753.
- Peter, R.E., Yu, K.L., 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 7, 173-197.
- Rakitin, A., Ferguson, M.M., Trippel, E.A., 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*. 170, 349-358.
- Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Baggio, D.M., Souza, B.E.d., 2009. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38, 2091-2098.
- Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Marcos, R.M., Neumann, G., De Toledo, C.P.R., Romagosa, E., 2010. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. *Aquaculture Research*. 42, 153-156.
- Sanches, E.A., Marcos, R.M., Baggio, D.M., Tessaro, L., Balen, R.E., Bombardelli, R.A., 2011. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 1163-1167.

- Sanches, E.A., Marcos, R.M., Okawara, R.Y., Caneppele, D., Bombardelli, R.A., Romagosa, E., 2013. Sperm motility parameters for *Steindachneridion parahybae* based on open-source software. *Journal of Applied Ichthyology*. 29, 1114-1122.
- Sanches, E.A., Okawara, R.Y., Caneppele, D., Toledo, C.P.R., Bombardelli, R.A., Romagosa, E., 2015. Sperm characteristics of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) throughout 112 h of storage at four temperatures. *Journal of Applied Ichthyology*. 31, 79-88.
- Sørensen, S.R., Gallego, V., Pérez, L., Butts, I.A.E., Tomkiewicz, J., Asturiano, J.F., 2013. Evaluation of Methods to Determine Sperm Density for the European eel, *Anguilla anguilla*. *Reproduction in Domestic Animals*. 48, 936-944.
- Streit Jr, D.P., Moraes, G.V., Ribeiro, R.P., Costa Caçador, W., Sakaguti, E.S., Povh, J.A., Souza, E.D., 2003. Estudo comparativo da indução hormonal da espermição em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa-DOI: 10.4025/actascianimsci. v25i2. 1996. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 25, 261-266.
- Tessaro, L., Toledo, C.P.R., Neumann, G., Krause, R.A., Meurer, F., Natali, M.R.M., Bombardelli, R.A., 2012. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. *Aquaculture*. 326, 74-80.
- Tvedt, H.B., Benfey, T.J., Martin-Robichaud, D.J., Power, J., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture*. 194, 191-200.
- Vazirzadeh, A., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., Hajimoradloo, A., Nematollahi, M.A., Mylonas, C.C., 2011. Comparison of the effects of different methods of mammalian and salmon GnRHa administration on spawning performance in wild-caught female carp (*Cyprinus carpio carpio*) from the Caspian Sea. *Aquaculture*. 320, 123-128.

- Vermeirssen, E.L.M., de Quero, C.M., Shields, R.J., Norberg, B., Kime, D.E., Scott, A.P., 2004. Fertility and motility of sperm from Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in relation to dose and timing of gonadotrophin-releasing hormone agonist implant. *Aquaculture*. 230, 547-567.
- Viveiros, A.T., Gonçalves, A.C., Di Chiacchio, I.M., Nascimento, A.F., Romagosa, E., Leal, M.C., 2015. Gamete quality of streaked prochilod *Prochilodus lineatus* (Characiformes) after GnRH α and dopamine antagonist treatment. *Zygote*. 23, 212-221.
- Viveiros, A.T.M., Fessehaye, Y., ter Veld, M., Schulz, R.W., Komen, J., 2002. Hand-stripping of semen and semen quality after maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*. 213, 373-386.
- Wang, N., Gardeur, J.-N., Henrotte, E., Marie, M., Kestemont, P., Fontaine, P., 2006. Determinism of the induction of the reproductive cycle in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*: Identification of environmental cues and permissive factors. *Aquaculture*. 261, 706-714.
- Wilson-Leedy, J.G., Kanuga, M.K., Ingermann, R.L., 2009. Influence of osmolality and ions on the activation and characteristics of zebrafish sperm motility. *Theriogenology*. 71, 1054-1062.
- Zaniboni-Filho, E., 1995. Utilização do LHRH-a para indução à espermiacão e desova do Pacu-caranha, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887). 1995. 8, 10.
- Zaniboni-Filho, E., Reynalte-Tataje, D., Hermes-Silva, S., 2010. Cultivo de bagres do gênero Steindachneridion, In: Baldissertotto, B., Gomes, L.C. (Orgs.), Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editoraufsm, Santa Maria, pp. 363-382.
- Zaniboni-Filho, E., Weingartner, M., 2007. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 31, 367-373.

- Zaniboni-Filho, E.; Schulz, U. H., 2003. Migratory fishes of the Uruguay river, In: Carolsfield, J., arvey,B.,Ross, C., Baer, A. (Eds.), Migratory fishes of the South America: biology, social importance and conservation status. IDRC/ World Bank/ World Fisheries Trust, Victoria, pp. 157-194.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 197, 99-136.
- Zupa, R., Rodríguez, C., Mylonas, C.C., Rosenfeld, H., Fakriadis, I., Papadaki, M., Pérez, J.A., Pousis, C., Basilone, G., Corriero, A., 2017. Comparative Study of Reproductive Development in Wild and Captive-Reared Greater Amberjack *Seriola dumerili* (Risso, 1810). *PloS one*. 12, e0169645.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Todas as fases do ciclo reprodutivo (imaturo, desenvolvimento, apto a liberar esperma, regressão, regeneração), incluindo a espermiacção podem ser atingidas pelos machos de *S. scriptum* mantidos em condições de laboratório.

Machos de *S. scriptum* mantidos em sistema *indoor* atingiram precocemente a primeira maturação sexual aos 13 meses de idade com comprimento médio de $28,50 \pm 2,15$ cm, condição que é atingida pelos machos mantidos em sistema *outdoor* aos 22 meses de idade com comprimento médio de $20,96 \pm 1,86$ cm.

O uso dos análogos de GnRH acetato de buserelina e Ovaprim® estimulou a produção de sêmen com qualidade similar à obtida com o uso de EPC. No entanto, recomenda-se o uso de acetato de buserelina como possível substituto ao uso de EPC, dadas as vantagens relacionadas com a redução dos custos e o tempo operacional necessários para induzir a espermiacção em *S. scriptum* dentro do território brasileiro.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos voltados para a determinação da densidade de estocagem ideal durante as primeiras fases de crescimento de *S. scriptum* em condições de laboratório devem ser realizados, uma vez que houve a necessidade de estimular o consumo de alimento (deslocando o alimento para borda da caixa) nas unidades experimentais com menor densidade de estocagem (35 peixes/m³). Nesta densidade de estocagem os animais aparentavam receio de se alimentar no centro da caixa local onde os pellets permaneciam flutuando; já nas unidades com maior densidade o comportamento dos animais foi mais espontâneo, sendo que durante os horários de alimentação os peixes procuravam o alimento por toda a superfície da água.

Com base nos altos índices de gordura observados nos animais alimentados até saciedade aparente com dietas ricas em proteína 40%, sugere-se a realização de estudos para a determinação dos requerimentos energéticos e proteicos, assim como as melhores estratégias de alimentação ao longo das diferentes fases fisiológicas (larva até reprodutor) de *S. scriptum*, com o objetivo de melhorar os índices de crescimento e reprodutivos desta espécie.

Dado que a motilidade e a velocidade espermática são ferramentas que em algumas espécies não predizem corretamente a capacidade de fertilização do espermatozoide, sugere-se a realização de estudos que permitam estabelecer se em *S. scriptum* maiores índices de motilidade e velocidade espermática predizem corretamente uma maior capacidade de fertilização do espermatozoide. Neste mesmo sentido há necessidade de esclarecer se o movimento altamente retilíneo observado nesta espécie pode ser correlacionado com maiores taxas de fertilização.

Durante o período experimental, os animais de ambos os grupos apresentaram aspecto saudável, com esporádicas manifestações de lesões causadas por bactérias (gram-positivas) na base das nadadeiras e na região do pedúnculo caudal. Para evitar mortalidades em decorrência destas lesões, os peixes foram tratados via oral com doses de florfenicol diluídas na ração comercial, seguindo a recomendação do médico veterinário responsável.

Os resultados observados com o uso de acetato de burelina em machos de *S. scriptum* abrem a possibilidade de sua utilização para a promoção da maturação final e desova em fêmeas. No entanto, recomenda-se a condução de testes com diferentes dosagens envolvendo pelo menos mais de uma aplicação, dado que em machos os resultados não foram satisfatórios em termos de volume total de sêmen coletado

quando aplicada uma única dose, uma vez que foram registrados valores similares aos obtidos quando aplicado solução salina (0,9% de NaCl).

Cabe destacar que embora o experimento de maturação gonadal em condições de laboratório tenha sido encerrado quando os machos apresentavam 27 meses de idade, as condições experimentais foram mantidas com o intuito de determinar a primeira maturação sexual das fêmeas desta espécie em ambiente *indoor*, sendo que até os 40 meses de idade não foi observada a presença de ovários maduros.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ABREU, M. R. **Maturação gonadal e seleção de fêmeas de suruvi *Steindachneridion scriptum* em condições de cativeiro.** 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

ADAMANTE, W. B.; WEINGARTNER, M.; NUNER, A. P. O. Feed transition in larval rearing of bocudo, *Steindachneridion scripta* (Pisces, Pimelodidae), using *Artemia* spp. *nauplii* and artificial diet. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1294-1300, 2007.

AGOSTINHO, A. A. et al. *Steindachneridion scripta*. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMON, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção.** 1ed. Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. v. II, p. 239-240.

ALI, H.; HAQUE, M. M.; BELTON, B. Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*, Sauvage, 1878) aquaculture in Bangladesh: an overview. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 6, p. 950-965, 2013.

AMOSS, M. et al. Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 44, n. 1, p. 205-210, 1971.

ANDRADE, E. S. et al. Indutores hormonais na reprodução artificial de curimba (*Prochilodus lineatus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, n. 4, p. 230-236, 2015.

ARANTES, F. P. et al. Profiles of sex steroids, fecundity, and spawning of the curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* in the São Francisco river, downstream from the Três Marias Dam, southeastern Brazil. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 330-336, 2010.

ARRATIA, G. The skin of catfishes—A review. In ARRATIA, G. et al. (Eds.). **Catfishes.** Enfield, New Hampshire: Sciences Publisher, Inc., 2003. v. I. p. 177-199.

BAKER, D. M. et al. Insulin-like growth factor I increases follicle-stimulating hormone (FSH) content and gonadotropin-releasing hormone-stimulated FSH release from coho salmon pituitary cells in vitro. **Biology of reproduction**, v. 63, n. 3, p. 865-871, 2000.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J.; BARCELLOS, L. G. Jundiá (*Rhamdia* sp.). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Orgs.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ed. Santa Maria: Ed da UFSM, 2010. p. 301-333.

BEUX, L. F.; ZANIBONI-FILHO, E. Produção pesqueira do reservatório de Itá, Alto Rio Uruguai. In: ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. **Reservatório de Itá: estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna**. Florianópolis: Ed da UFSC, 2008. p. 87-108.

BILLARD, R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. **Reproduction Nutrition Développement**, v. 26, n. 4, p. 877-920, 1986.

BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 535-548, 2010.

BOIME, I.; BEN-MENACHEM, D. Glycoprotein hormone structure-function and analog design. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 54, p. 217-288, 1999.

BRABO, M. F. et al. Viabilidade econômica da produção de alevinos de espécies reofílicas em uma piscicultura na Amazônia oriental. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 1, n. 41, p. 677-685, 2015.

BRITZ, P. The utility of homoplastic pituitary glands for spawning induction of the African catfish (*Clarias gariepinus*) in commercial aquaculture in Africa. **Water SA**, v. 17, n. 3, p. 237-241, 1991.

CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Orgs.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ed. Santa Maria: Ed da UFSM, 2010. p. 335-361.

CANOSA, L. F.; CHANG, J. P.; PETER, R. E. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 151, n. 1, p. 1-26, 2007.

CARRILLO, M. et al. Hormonal and Environmental Control of Puberty in Perciform Fish. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1163, n. 1, p. 49-59, 2009.

CEJKO, B. I. et al. The effectiveness of hormonal preparations (Ovopel, Ovaprim, LHRHa, hCG and CPE) in stimulating spermiation in dace *Leuciscus leuciscus* (L.). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, n. 6, p. 873-877, 2012.

CHAUVIGNÉ, F. et al. Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Mediate the Androgenic Pathway in Leydig Cells of an Evolutionary Advanced Teleost. **Biology of reproduction**, v. 87, n. 2, p. 1-11, 2012.

CHAVES-MORENO, L. et al. Evaluation in cachama (*Piaractus brachypomus*) of induced reproduction of with busserelin acetate. **Veterinaria y Zootecnia**, v. 6, n. 1, p. 47-55, 2012.

CORTÉS, M. G. A. **Guía para el manejo, cría y conservación del bagre rayado** *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Bogotá: Convenio Andrés Bello, 2003. 56 p.

CUETO, J. A. M. Cerebro y reproducción en peces: bases neurales y neuroendocrinas. In CARRILLO, M. A. **La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura**. Madrid: Fundación observatorio español de acuicultura, 2009. p. 25-96.

DAMASCENO, D. Z. et al. Induced spermiation of *Pimelodus britskii* (Teleostei: Pimelodidae) during the reproductive period. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 3, p. 862-874, 2017.

DE ROOIJ, D. G.; RUSSELL, L. D. All You Wanted to Know About Spermatogonia but Were Afraid to Ask. **Journal of andrology**, v. 21, n. 6, p. 776-798, 2000.

DE VLAMING, V. L. Environmental control of teleost reproductive cycles: a brief review. **Journal of fish Biology**, v. 4, n. 1, p. 131-140, 1972.

DIOGO, R.; CHARDON, M.; VANDEWALLE, P. Functional morphology of catfishes: movements of barbels. In ARRATIA, G. et al. (Eds.). **Catfishes**. Enfield, New Hampshire: Sciences Publisher, Inc., 2003. v. I, p. 203-220.

DONALDSON, E. M.; HUNTER, G. A. 7 Induced Final Maturation, Ovulation, and Spermiation in Cultured Fish. **Fish Physiology**, v. 9, p. 351-403, 1983.

DUBOIS, E. A. et al. Evolutionary development of three gonadotropin-releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. **Brain Research Bulletin**, v. 57, n. 3, p. 413-418, 2002.

DUFOUR, S. et al. Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. **Journal of fish Biology**, v. 76, n. 1, p. 129-160, 2010.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Contributing to food security and nutrition for all. Rome: FAO, 2016. p. 200.

FAUVEL, C.; SUQUET, M.; COSSON, J. Evaluation of fish sperm quality. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 5, p. 636-643, 2010.

FERNALD, R. D.; WHITE, R. B. Gonadotropin-Releasing Hormone Genes: Phylogeny, Structure, and Functions. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 20, n. 3, p. 224-240, 1999.

FISHBASE. *Steindachneridion-scriptum* (Miranda Ribeiro, 1918)/nomes comuns. Disponível em:
<http://www.fishbase.org/summary/Steindachneridion-scriptum.html>
Acesso em maio de 2017.

GARAVELLO, J. C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 607-623, 2005.

GARCÍA-LÓPEZ, A. et al. Leydig Cells Express Follicle-Stimulating Hormone Receptors in African Catfish. **Endocrinology**, v. 150, n. 1, p. 357-365, 2009.

GARCÍA-LÓPEZ, A. et al. Studies in zebrafish reveal unusual cellular expression patterns of gonadotropin receptor messenger ribonucleic acids in the testis and unexpected functional differentiation of the gonadotropins. **Endocrinology**, v. 151, n. 5, p. 2349-2360, 2010.

GHIRALDELLI, L. et al. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 4, 2007.

GOMES, C. C.; COSTA, F. G.; BORELLA, M. I. Distribution of GnRH in the brain of the freshwater teleost *Astyanax altiparanae* (Garutti e Britski, 2000). **Micron**, v. 52, p. 33-38, 2013.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, D. et al. Immunohistochemical localization of three different prepro-GnRHs in the brain and pituitary of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using antibodies to the corresponding GnRH-associated peptides. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 446, n. 2, p. 95-113, 2002.

GRIGGS, W. S.; PITCHFORD, G. F. **A Moose's History of North America**. Richmond: Brandylane Publishers Inc, 2009. 114 p.

HAFEEZ-UR-REHMAN, M. et al. Effect of different synthetic hormones and or their analogues on induced spawning in *Channa marulius*. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 47, n. 3, 2015.

HASHIMOTO, D. T. et al. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, n. 2, p. 108-118, 2012.

HASHIMOTO, D. T. et al. Molecular identification of intergenus crosses involving catfish hybrids: risks for aquaculture production. **Neotropical Ichthyology**, v. 14, n. 2, 2016.

HILL, J. E. et al. Survey of Ovaprim Use as a Spawning Aid in Ornamental Fishes in the United States as Administered through the University of Florida Tropical Aquaculture Laboratory. **North American Journal of Aquaculture**, v. 71, n. 3, p. 206-209, 2009.

HUANG, Y. S. et al. Insulin-like growth factor-I stimulates gonadotrophin production from eel pituitary cells: a possible metabolic signal for induction of puberty. **Journal of Endocrinology**, v. 159, n. 1, p. 43-52, 1998.

ICMBIO. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/Lista de espécies ameaçadas-saiba mais/Portaria MMA nº 445, de 17 de dezembro de 2014 (peixes e invertebrados aquáticos): 475 táxons.**

Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/especies-ameacadas-destaque> Acesso em maio de 2017.

INGRAM, B. et al. Induced spawning, larval development and rearing of two indigenous malaysian mahseer, *Tor tambroides* and *T. douronensis*. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 10, p. 983-995, 2005.

ITTZÉS, I. et al. Ovulation induction in jundiá (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. **Aquaculture Research**, v. 46, n. 12, p. 2924-2928, 2015.

JIANG, J. et al. Isolation, characterization and expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 cDNAs from the testes of Japanese eel (*Anguilla japonica*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of molecular endocrinology**, v. 31, n. 2, p. 305-315, 2003.

KOHDÁ, M. et al. Sperm drinking by female catfishes: a novel mode of insemination. **Environmental Biology of Fishes**, v. 42, n. 1, p. 1-6, 1995.

LEEK, F. F. An Ancient Egyptian Mummified Fish. **The Journal of Egyptian Archaeology**, v. 62, p. 131-133, 1976.

LEVAVI-SIVAN, B. et al. Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 412-437, 2010.

LÉVÊQUE, C. et al. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 545-567, 2008.

LÓPEZ, T. M. M. **Reprodução induzida e desenvolvimento inicial do Jundiá *Leiarius marmoratus* (PISCES: SILURIDAE)**. 2014. 50 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MAGHELLY, O. R. et al. Características morfométricas e rendimento corporal do suruvi *Steindachneridion scriptum* agrupados por sexo. **Boletim do Instituto de Pesca**, p. 419-430, 2014.

MARTINS, E. D. F. F. et al. Ovopel and carp pituitary extract for the reproductive induction of *Collossoma macropomum* males. **Theriogenology**, v. 98, p. 57-61, 2017.

MATOS, D. et al. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 4, p. 225-232, 2008.

MATSUO, H. et al. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, n. 6, p. 1334-1339, 1971.

MAZZOLDI, C.; LORENZI, V.; RASOTTO, M. B. Variation of male reproductive apparatus in relation to fertilization modalities in the catfish families Auchenipteridae and Callichthyidae (Teleostei: Siluriformes). **Journal of fish Biology**, v. 70, n. 1, p. 243-256, 2007.

MELAMED, P. et al. Endocrine regulation of gonadotropin and growth hormone gene transcription in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: **Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 119, n. 3, p. 325-338, 1998.

MELO, R. M. C. et al. Comparative morphology of the gonadal structure related to reproductive strategies in six species of Neotropical catfishes (Teleostei: Siluriformes). **Journal of Morphology**, v. 272, n. 5, p. 525-535, 2011.

MEURER, S.; ZANIBONI FILHO, E. O suruvi, *Steindachneridion scripta* Ribeiro, 1918, como espécie alternativa para a piscicultura sul brasileira. In: XI Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 11., 2000, Florianópolis, **Anais...** Florianópolis. CD Room.

MIGAUD, H. et al. Gamete quality and broodstock management in temperate fish. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, p. S194-S223, 2013.

MIURA, T.; MIURA, C. I. Molecular control mechanisms of fish spermatogenesis. **Fish physiology and biochemistry**, v. 28, n. 1, p. 181-186, 2003.

MMA. **Ministério do Meio Ambiente/Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameacadas-de-extincao/fauna-ameacada> Acesso em maio de 2017.

MTPA. **Ministério dos Transportes, Portos e Aviação Civil/Mapa hidroviário**. Disponível em: http://www.transportes.gov.br/images/BIT_TESTE/Mapas/Mapa_Hidroviario.pdf Acesso em Agosto de 2017.

MYLONAS, C. C.; ZOHAR, Y. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. In: BABIN, P. J.; CERDÀ, J. et al (Eds.). **The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications**. Dordrecht: Springer, 2007. p.437-474.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 516-534, 2010.

MYLONAS, C. C.; DUNCAN, N. J.; ASTURIANO, J. F. Hormonal manipulations for the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm quality. **Aquaculture**, v. 472, p. 21-44, 2017.

NASCIMENTO, G. B. **Crescimento de juvenis de suruvi (*Steindachneridion scriptum*) em diferentes densidade de estocagem.** 2016. 54 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

NASCIMENTO, M. A. P. **Densidade de estocagem e temperatura da água na criação de suruvi (*Steindachneridion scriptum*) em tanques-rede.** 2013. 33 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

NASS. **Catfish Production.** Disponível em:

<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/nass/CatfProd//2010s/2017/CatfProd-02-03-2017.pdf> Acesso em maio de 2017

NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V. H. **Fishes of the World**, 5ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2016. 752 p.

NETO, J. D. F. T.; RIBEIRO, O. Sobre a técnica de hipofisacção de peixes. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 5-14, 1946.

NUNEMAKER, C. S. et al. Gonadotropin-releasing hormone neurons generate interacting rhythms in multiple time domains. **Endocrinology**, v. 144, n. 3, p. 823-831, 2003.

NUÑEZ, J. et al. Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 7, p. 764-776, 2008.

OHTA, T. et al. Follicle-Stimulating Hormone Induces Spermatogenesis Mediated by Androgen Production in Japanese Eel, *Anguilla japonica*. **Biology of reproduction**, v. 77, n. 6, p. 970-977, 2007.

OKUZAWA, K. Puberty in teleosts. **Fish physiology and biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 31-41, 2002.

OLIVEREAU, M.; BALL, J. N. Histological Study of Functional Ectopic Pituitary Transplants in a Teleost Fish (*Poecilia formosa*). **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences**, v. 164, n. 994, p. 106-129, 1966.

PAIXÃO, R. V. **Diversidade genética de *Steindachneridion scriptum* (Miranda Ribeiro, 1918 do alto rio Uruguai)**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em aquicultura) – Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

PALLAMIN, R. T. **Eugenol para anestesia de espécies nativas de peixes do alto Uruguai: piava, jundiá e suruvi**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

PAULINO, M. S. et al. Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de busserelina. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 1, p. 39-45, 2011.

PETER, R. E.; GILL, V. E. A stereotaxic atlas and technique for forebrain nuclei of the goldfish, *Carassius auratus*. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 159, n. 1, p. 69-101, 1975.

PETER, R. E.; YU, K. L. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 7, n. 2, p. 173-197, 1997.

PHUONG, N. T.; OANH, D. T. H. Striped catfish aquaculture in Vietnam: A decade of unprecedented development. In: DE SILVA, S. S.; DAVY, F. B. (Eds.). **Success Stories in Asian Aquaculture**. Netherlands: Springer, 2010. p. 131-147.

PLANAS, J. V. et al. Regulation of Ovarian Steroidogenesis In Vitro by Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone During Sexual Maturation in Salmonid Fish. **Biology of reproduction**, v. 62, n. 5, p. 1262-1269, 2000.

POWELL, J. F. F. et al. Primary structure of three forms of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from the pacu brain. **Regulatory Peptides**, v. 68, n. 3, p. 189-195, 1997.

PRADO, F. D. et al. Genetics of large pimelodidae catfishes: contributions for ecology and conservation. In: BRADLEY, R. (Ed.). **Carp and catfish: biology, behavior, and conservation strategies**. New York: Nova Science Publishers, 2014. p. 1-30.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese em peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 181-191, 2013.

REITHERMAN, R. **Earthquake Mythology**. CUREE Calendar, 2014.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. Os peixes ameaçados de extinção. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMON, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. 1ed. Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. v. II, p. 8-285.

RURANGWA, E. et al. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, v. 234, n. 1, p. 1-28, 2004.

SAINT-PAUL, U. Native fish species boosting Brazilian's aquaculture development. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2017.

SAKAI, N. et al. Involvement of sperm in the production of $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the testis of spermiating rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Biomedical Research**, v. 10, n. 2, p. 131-138, 1989.

SANCHES, E. A. et al. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 1, p. 153-156, 2010.

SATO, Y. et al. Reproductive traits of the yellow-mandi catfish *Pimelodus maculatus* Lacépède (Osteichthyes, Siluriformes) in captive breeding. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 4, p. 981-986, 1999.

SCHNEIDER, F.; TOMEK, W.; GRÜNDKER, C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 691-709, 2006.

SCHNEIDER, F.; POEHLAND, R. Endocrinology of Reproduction. In: JAMIESON, B.G.M (Ed.). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (agnathans and bony fishes)**, New Hampshire: Science Publishers, 2009. p. 54-93.

SCHORK, G. et al. Diagnóstico da pesca artesanal na usina hidroelétrica de Machadinho, alto Rio Uruguai–Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, n. 2, p. 97-108, 2012.

SCHORK, G.; HERMES-SILVA, S.; ZANIBONI-FILHO, E. Analysis of fishing activity in the Itá reservoir, Upper Uruguay River, in the period 2004-2009. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 3, p. 559-571, 2013.

SCHULZ, R. W. et al. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 390-411, 2010.

SCHÜTZ, J. H. et al. Crescimento e sobrevivência de larvas de suruvi *Steindachneridion scriptum* nos primeiros dias de vida: influência de diferentes alimentos e fotoperíodos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 3, p. 443-451, 2008.

SHERWOOD, N. et al. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 80, n. 9, p. 2794-2798, 1983.

SILVA, B. C. et al. **Desempenho produtivo da piscicultura catarinense em 2015**. Florianópolis, SC: EPAGRI, 2017. 17 p.

SINGH, U.; KUMAR, S.; SINGRU, P. S. Interaction between Dopamine- and Isotocin-Containing Neurons in the Preoptic Area of the Catfish, *Clarias batrachus*: Role in the Regulation of Luteinising Hormone Cells. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 24, n. 11, p. 1398-1411, 2012.

SNEED, K. E.; CLEMENS, H. P. The morphology of the testes and accessory reproductive glands of the catfishes (Ictaluridae). **Copeia**, v.1963, n. 4, p. 606-611, 1963.

STREIT JR, D. P. et al. Estudo comparativo da indução hormonal da espermiacão em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa 1996. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 25, n. 2, p. 261-266, 2003.

STREIT JR, D. P. et al. Qualitative parameters of the piapara semen (*Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850). **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p. 373-377, 2008.

SUZUKI, K.; KAWAUCHI, H.; NAGAHAMA, Y. Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from chum salmon pituitary glands. **General and Comparative Endocrinology**, v. 71, n. 2, p. 292-301, 1988.

SWANSON, P.; DICKEY, J. T.; CAMPBELL, B. Biochemistry and physiology of fish gonadotropins. **Fish physiology and biochemistry**, v. 28, n. 1, p. 53-59, 2003.

TARANGER, G. L. et al. Control of puberty in farmed fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 483-515, 2010.

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, p. 1-19, 2016.

VAN ASSELT, L. A. C. et al. Characterization of dopamine D2 receptors in the pituitary of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 80, n. 1, p. 107-115, 1990.

VAZIRZADEH, A. et al. Comparison of the effects of different methods of mammalian and salmon GnRH α administration on spawning performance in wild-caught female carp (*Cyprinus carpio carpio*) from the Caspian Sea. **Aquaculture**, v. 320, n. 1-2, p. 123-128, 2011.

VIVEIROS, A. T.; EDING, E. H.; KOMEN, J. Effects of 17alpha-methyltestosterone on seminal vesicle development and semen release response in the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Reproduction**, v. 122, n. 5, p. 817-827, 2001.

WANG, N. et al. Determinism of the induction of the reproductive cycle in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*: Identification of environmental cues and permissive factors. **Aquaculture**, v. 261, n. 2, p. 706-714, 2006.

WEIL, C. et al. Differential Effect of Insulin-Like Growth Factor I on in Vitro Gonadotropin (I and II) and Growth Hormone Secretions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) at Different Stages of the Reproductive Cycle. **Endocrinology**, v. 140, n. 5, p. 2054-2062, 1999.

WELTZIEN, F. A. et al. The brain-pituitary-gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (Pleuronectiformes). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 137, n. 3, p. 447-477, 2004.

YARON, Z.; LEVAVI-SIVAN, B. Endocrine regulation of fish reproduction. **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**, v. 2, p. 1500-1508, 2011.

ZANIBONI-FILHO, E. Utilização do LHRH-a para indução à espermiacão e desova do Pacu-caranha, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887). **Biotemas**, v. 8, n. 1, p. 36-45, 1995.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Migratory fishes of the Uruguay river. In: CAROLSFELD, J. et al. (Eds.). **Migratory fishes of the South America: biology, social importance and conservation status**. Victoria: IDRC/ World Bank/ World Fisheries Trust, 2003. p. 157-194.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. **Catálogo de peixes ilustrado do alto Rio Uruguai**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004. 128 p.

ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 367-373, 2007.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. Photoperiod influence on the cultivation of *Steindachneridion scriptum* (Pisces, Pimelodidae) juvenile. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 3, p. 555-561, 2008a.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. Alterações espaciais e temporais da estrutura da comunidade de peixes em decorrência da implantação do reservatório de Itá (Alto rio Uruguai). In ZANIBONI FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. (Org.). **Reservatório de Itá: estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna**. Florianópolis: Ed da UFSC, 2008b. p. 21-48.

ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; HERMES-SILVA, S. Cultivo de bagres do gênero *Steindachneridion*. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Orgs.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ed. Santa Maria: Ed da UFSM, 2010. p. 363-382.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. Bioimpedance as a tool for evaluating the body composition of suruvi (*Steindachneridion scriptum*). **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, p. 239-244, 2015.

ZANUY, S. et al. Regulación y control hormonal del proceso reproductor de los teleosteos. In Carrillo, M. A. **La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura**. Madrid: Fundación observatorio español de acuicultura, 2009. p. 97-172.

ZOHAR, Y.; MYLONAS, C. C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 99-136, 2001.

ZOHAR, Y. et al. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 438-455, 2010.

8. APÊNDICES

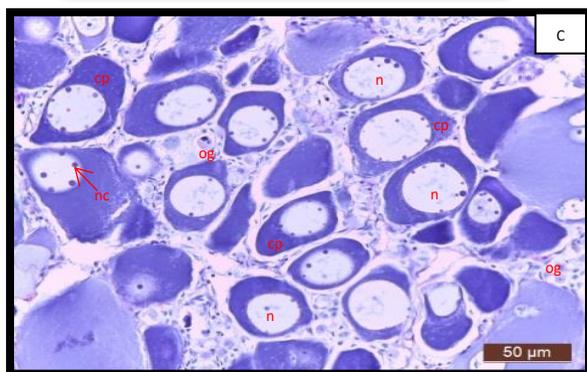
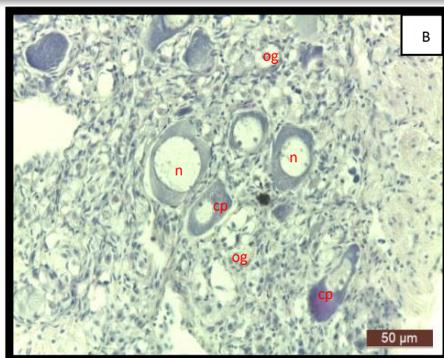
Apêndice 1: Unidades experimentais utilizadas no capítulo 1. A- Animais em cardume antes da estocagem nas unidades experimentais; B- caixas de polietileno com volume útil de 710 L (sistema *indoor*); C- Tanque-rede instalado em reservatório de água (sistema *outdoor*).



Apêndice 2: Atividades realizadas com *Steindachneridion scriptum*. A- Animais eutanasiados por overdose de eugenol; B- Biometrias com auxílio de balança digital para acompanhar o crescimento dos animais; C- Remoção do chip eletrônico (PIT-tag); D- Registro do acúmulo de gordura corporal; E e F- Coleta e avaliação do peso das gônadas; G e H- Exemplares cortados e homogeneizados para realizar as análises de composição centesimal.



Apêndice 3: Fêmeas de *Steindachneridion scriptum*. A- Aparência macroscópica do ovário, * = gônada classificada como imatura; B e C- Características microscópicas da gônada imatura em exemplares com 4 e 24 mês de idade, og = ovogônias, cp = ovócito em crescimento primário, n = núcleo, nc = nucléolos.



Apêndice 4: Configuração utilizada na caixa de diálogo do ImageJ/*plugin* CASA para avaliar os parâmetros de motilidade e velocidade espermática do sêmen de reprodutores de *Steindachneridion scriptum* mantidos em condições de laboratório.

Parâmetros	Valores de entrada
	<i>Steindachneridion scriptum</i>
A. Minimum sperm size (Pixels)	2
B. Maximum sperm size (Pixels)	35
C. Minimum track length (frames)	100
D. Maximum sperm velocity between frames (Pixels)	5
E. Minimum VSL for motile ($\mu\text{m/s}$)	2
F. Minimum VAP for motile ($\mu\text{m/s}$)	8
G. Minimum VCL for motile ($\mu\text{m/s}$)	10
H. Low VAP speed ($\mu\text{m/s}$)	5
I. Maximum percentage of path with zero VAP	1
J. Maximum percentage of path with low VAP	30
K. Low VAP speed 2 ($\mu\text{m/s}$)	20
L. Low VCL speed ($\mu\text{m/s}$)	20
M. High WOB (percent VAP/VCL)	80
N. High LIN (percent VSL/VAP)	80
O. High WOB two (percent VAP/VCL)	50
P. High LIN two (percent VSL/VAP)	60
Q. Frame rate (frames per second)	100
R. Microns per 1000 pixels	925,9259

Apêndice 5: Dados meteorológicos disponibilizados pelo CIRAM (Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina).



Região	Meio Oeste		Meio Oeste	
Estação	60-Caçador		60-Caçador	
Variável	Temperatura Máxima do Ar Diária (°C)	Temperatura Média do Ar Diária (°C)	Temperatura Mínima do Ar Diária (°C)	Pluviômetro 24 horas (mm)
Mês Ano	Média Mensal	Média Mensal	Média Mensal	Soma Mensal
JAN 2014	28,2	21,3	16,5	345,6
FEV 2014	28,5	21,1	16,1	135,6
MAR 2014	25,1	18,7	14,9	167,5
ABR 2014	22,6	17,2	13,9	109,9
MAI 2014	19,5	13,7	9,8	163,8
JUN 2014	17,9	13,1	9,9	439,2
JUL 2014	17,8	12,2	8,3	54,3
AGO 2014	22,0	13,6	7,7	113,5
SET 2014	21,7	16,0	11,9	279,9
OUT 2014	25,5	18,5	13,4	106,9
NOV 2014	24,7	18,8	14,3	254,6
DEZ 2014	24,9	20,1	15,8	138,7
JAN 2015	27,3	21,2	16,7	298,3
FEV 2015	26,2	20,2	16,1	183,0
MAR 2015	25,0	19,6	15,7	115,4
ABR 2015	23,5	17,1	13,0	43,6
MAI 2015	19,9	14,4	11,0	111,7
JUN 2015	18,8	12,3	7,7	153,0
JUL 2015	18,5	12,7	8,6	251,9
AGO 2015	23,7	15,7	10,4	46,1
SET 2015	22,8	16,4	11,5	230,3
OUT 2015	23,1	17,9	14,1	360,1
NOV 2015	22,9	18,6	15,3	324,3
DEZ 2015	26,2	21,0	16,7	219,2